DIE RESORPTION VON PHARMAKA AUS WÄSSRIGEN UND HYDROPHOBEN LÖSUNGEN IM ENDDARM DER RATTE

VORGELEGT VON

PETER MICHAEL BITTIGHOFER

1981

AUS DEM
INSTITUT FÜR PHARMAKOLOGIE UND TOXIKOLOGIE
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
(DIREKTOR: PROF. DR.MED. W. FORTH)

DIE RESORPTION VON PHARMAKA AUS WÄSSRIGEN UND HYDROPHOBEN LÖSUNGEN IM ENDDARM DER RATTE

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE IN DER GESAMTEN MEDIZIN
AN DER LUDWIG MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT ZU MÜNCHEN

VORGELEGT VON

PETER MICHAEL BITTIGHOFER

AUS

DORNSTADT

1980

MIT GENEHMIGUNG DES FACHBEREICHS MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

REFERENT:	PROF. DR.MED. H. KURZ
KOREFERENT:	PROF. DR.MED. M. KIESE
DEKAN:	PROF. DR.MED. W. SPANN
TAG DER MÜNDLICHEN PRÜFUNG:	15. Januar 1981

UNIV. LEIDEN BIBL.

Meinen Eltern

Aber du sprachst zu mir:
auch hier sind Götter und walten,
Groß ist ihr Maß,
doch es mißt gern mit der Spanne der Mensch.

Friedrich Hölderlin

INHALTSVERZEICHNIS

I EINLEITUNG 1

II METHODIK

1 Versuchstiere 3

2 Substanzen 3

3 Versuchsaufbau 5

4 Präparation der Versuchtiere 7

5 Perfusion 8

6 Präparation des Darms nach Perfusion, Blutentnahme 9

7 Bestimmungsmethoden 9

8 Korrektur der Konzentrations-bestimmungen 11

9 pH-Bestimmung 11

1o Verteilungskoeffizienten 13

11 Rechnerische Auswertung 14

12 Viskositätsmessung 17

III ERGEBNISSE 18

IV DISKUSSION

A Kritik der Methode 24

1 Vorbereitung zur Präparation der Tiere 25

2 Präparation der Tiere 26

3 Perfusion 26

4 Kontrollversuche 27

5 Konzentration der Pharmaka im Blutplasma 27

6 Wassernettofluß 27

7 Verunreinigung 28

8 Kontrolluntersuchungen 29

9 Viskosität 3o

B Kritik der Ergebnisse 32

Versuchsgruppe 1 33

Versuchsgruppe 2 4o

Versuchsgruppe 3 46

C Einfluß der Oberflächenbeschaffenheit der Darmschleimhaut auf die Resorption 5o

V ZUSAMMENFASSUNG 56

VI LITERATUR 57

VII LEBENSLAUF 74

Die rektale Verabreichung von Arzneistoffen war bereits in alten Kulturen bekannt (DIEPGEN, 1953). Vor 140 Jahren entdeckte der Stockholmer Anatom A.A. Retzius, daß das Blut aus distalen Gefäßen des Rektums direkt in die vena cava geführt wird. Pharmaka, die im Rektum resorbiert werden, gelangen deshalb zum Teil in den großen Kreislauf, ohne zuvor von der Leber teilweise inaktiviert zu werden.
Die Resorption aus Magen, Dünndarm und Dickdarm ist bereits recht gut untersucht worden. Eine Auswahl der Literatur ist im folgenden zusammengestellt:

Magen:

BRADLEY et al. (1936)
HOGBEN et al. (1957 b)
KAKEMI et al. (1967 a)
KAREL (1948)
KOIZUMI et al. (1964 a)
SCHANKER et al. (1957)
TRAVELL (1940)

Dünndarm:

DOLUISIO et al. (1969 a)
KAKEMI et al. (1967 c, 1969 b)
KOIZUMI et al. (1964 b)
RENDINA et al. (1957)
SCHANKER et al. (1958)
SCHEDL et al. (1961)

Dickdarm:

KAKEMI et al. (1969 b)
SCHANKER (1959)

Dagegen gibt es über die Resorption aus dem Enddarm nur wenig Literatur (KAKEMI et al. 1965 a, WAGNER et al. 1969). Nach BECKETT et al. (1970), COOPERSTEIN et al. (1959), KURZ (1975) und WAGNER et al. (1969) ist das Resorptionsvermögen des Enddarms geringer als das der darüberliegenden Darmabschnitte.
In dieser Arbeit wird die Resorption verschiedener Pharmaka mit unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften am isoliert durchströmten Enddarm der Ratte untersucht. Die dabei ausgeführten Experimente lassen sich in drei Versuchsgruppen aufteilen:
In der ersten Gruppe wird unter standardisierten Bedingungen die Resorption von Pharmaka im Enddarm aus wässriger isotoner Lösung bestimmt und in Beziehung zu den Verteilungskoeffizien-

ten (VK) der Pharmaka mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln gesetzt.
In der zweiten Gruppe werden bei vergleichenden Untersuchungen die Resorptionswerte von einigen Pharmaka in verschiedenen Darmabschnitten aus wässriger Lösung bestimmt und mit den VK dieser Pharmaka verglichen. Die in jedem Abschnitt herrschende spezifische Wasserstoffionenkonzentration wird berücksichtigt.
In der dritten Gruppe wird die Resorption von Pharmaka im Enddarm aus einer unpolaren Lösung untersucht und ebenfalls mit dem Verteilungskoeffizienten dieser Pharmaka korreliert.

Übersichtsarbeiten über die Resorption von Arzneimitteln sind von BRODIE et al. (1957), BRODIE (1964), GOLDSCHMIDT (1921), HOGBEN (1960), JOLLOW et al. (1972), KURZ (1975), ORZECHOWSKI (1965) und SCHANKER (1960, 1962, 1964) veröffentlicht worden.

1. Versuchstiere

Männliche SPRAGUE-DAWLEY-Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 32o $\pm$ 42g wurden verwendet. Das Futter wurde 24h (bei Versuchsgruppe 1 und 2) bzw. 48h (bei Versuchsgruppe 3) vor Versuchsbeginn entzogen. Wasser bekamen die Tiere ad libitum.

2. Substanzen

Die bei den Untersuchungen verwendeten Pharmaka sind in Tab. 1 zusammengefaßt.

Für die Perfusionen mit wässrigen Lösungen (Versuchsgruppen 1 und 2) wurde eine in ihrer Zusammensetzung von SCHANKER (1959) angegebene Salzlösung verwendet. Sie ist isoton und auf pH 7.2 eingestellt. Bei Perfusionen mit hydrophoben Lösungen in Versuchsgruppe 3 diente flüssiges Paraffin (paraffinum perliquidum, DAB7: Dichte ϱ_{20} = o.85 - o.87, Viskosität bei 2o° C höchstens 6o $\pm$ lo cP) als Lösungsmittel.

Auch gut lipidlösliche Pharmaka können in flüssigem Paraffin nur sehr schwer bzw. langsam in Lösung gebracht werden. Deshalb wurde folgendermaßen vorgegangen: zuerst wurde eine wässrige Lösung des betreffenden Pharmakons hergestellt. Ihre Konzentration wurde so gewählt, daß später genug Wirkstoff in das flüssige Paraffin übergehen konnte. Der Stammlösung wurde Säure bzw. Lauge zugesetzt, so daß das Pharmakon undissoziiert vorlag. Eine genügende Menge flüssigen Paraffins wurde zugegeben, und die zwei Phasen 16h lang miteinander verrührt. Die Konzentration des Pharmakons in der Paraffinphase wurde an einer Probe nach Reextraktion in verdünnte Lauge oder Säure und durch Vergleich mit einer Eichlösung fotometrisch bestimmt. Danach wurde die Lösung in Paraffin auf die gewünschte Konzentration verdünnt.

Tab. 1 TESTSUBSTANZEN

Pharmakon	Abk.	MM	SBa	pK_a	VG 1	VG 2	VG 3	Konzentration (nmol/ml) in VG 1&2	Konzentration (nmol/ml) in VG 3
Aminophenazon	AP	231.3	B	5.1	1	2	3	100	100
Anilin	AN	93.1	B	4.6	1	2		100	
Barbital	BA	184.2	S	7.7	1		3	100	38.4
Chinin	Ch	324.4	B	8.4			3		100
Chlorpromazin	CP	318.5	B	9.3	1	2	3	100	100
Desipramin	DS	266.4	B	10.2	1	2	3	100	100
Hexobarbital	HB	236.3	S	8.2	1		3	100	100
Mecamylamin	MA	167.0	B	11.2			3		100
Methohexital	MH	262.3	S	7.9	1			100	
Nitrofurantoin	NF	238.2	S	7.2	1	2		100	
Oxyphenbutazon	OP	324.4	S	4.7	1			100	
Pentobarbital	PB	226.3	S	8.0	1		3	100	91
Phenazon	PN	188.2	B	1.4	1	2		100	
Phenol	PL	94.1	S	9.9	1	2		100	
Phenylbutazon	PB	308.4	S	4.5	1	2	3	100	100
Promethazin	PR	320.9	B	9.1	1			100	
Salicylsäure	SA	138.1	S	3.0			3		100
Sulfadimethoxin	SM	310.3	a	6.32	1			100	
Sulfinpyrazon	SP	404.5	S	2.8			3		50
Thiobutabarbital	TBB	228.3	S	7.4	1		3	100	91
Thiopental	TP	242.3	S	7.45	1	2	3	50	50

MM Molekularmasse

VG Versuchsgruppe 1 Perfusion Rektum mit wässriger Lösung

Versuchsgruppe 2 Perfusion Ileum-Colon-Rektum mit wässriger Lösung

Versuchsgruppe 3 Perfusion Rektum mit Lösung in flüssigem Paraffin

s Säure

B Base (Lauge)

a amphoter

Bei der Herstellung der Barbital-Lösung in flüssigem Paraffin wurde wegen der geringen Lösungsgeschwindigkeit dieses Pharmakons anders verfahren: um eine genügende Konzentration im Paraffin zu erhalten, wurde zuerst ein Verteilungsgleichgewicht zwischen wässriger Lösung und Diaethylaether eingestellt. Die Aetherlösung wurde danach von der wässrigen Lösung getrennt und mit Paraffin gemischt. Dann wurde die Mischung bei 65°-75°C unter einem Abzug mehrere Stunden lang gerührt, bis der Aether verdampft war. Nach Sedimentierung des überschüssigen Barbitals wurde die Paraffinlösung filtriert.
Die Konzentration der Pharmaka wurde an der fertiggestellten Lösung geprüft. Es wurden nur klare Lösungen verwendet. Die Lösungen wurden bei Temperaturen um + 4°C aufbewahrt und innerhalb weniger Tage verbraucht. Vor jedem Versuch wurde eine Probe entnommen und nochmals die Konzentration bestimmt.

3. Versuchsaufbau

Zur Perfusion des Enddarms wurde ein Instrument benutzt, das in Abb. 1 im Längsschnitt dargestellt ist und im weiteren Text als Rektumperfusionsrohr bezeichnet wird. Das Instrument besteht aus einem Rohr (V2A-Stahl, 2.8 mm Durchmesser), welches in den Enddarm der Ratte eingeschoben wird, und einer darübergeschobenen Vorrichtung zum Verschluß des Darmausgangs und der Ableitung der Perfusionslösung. Die Perfusionslösung wird durch das Rohr gepumpt und tritt an der Spitze des Rohrs in das isolierte Darmsegment über. Im Darm fließt sie orthograd zurück und gelangt in das Ablaufröhrchen. Der Abstand zwischen Spitze und Ableitvorrichtung beträgt 5 cm.
Zur Durchspülung des Colons und des Ileums wurden für die Zu- und Ableitung der Perfusionslösung V2A-Röhrchen verwendet, zwischen welche der Darmabschnitt eingebunden wurde.
Die Perfusionslösung wurde durch Infusionspumpen (Fa. BRAUN, Melsungen) kontinuierlich dem Darm zugeführt. Als Infusions-

ABB. 1: Darmperfusionsrohr. Die Pfeile geben die Ein- und Austrittsstellen der Perfusionsflüssigkeit an.

spritzen wurden Ganzglasspritzen (5o ml, Fa. BRAUN, Melsungen) verwendet, die ohne Zwischenschaltung eines Schlauches direkt mit dem Darmperfusionsrohr verbunden wurden.
Nach der Darmpassage gelangte die Perfusionslösung durch das Ablaufröhrchen in ein verschlossenes Sammelglas. Bei wärmeempfindlichen Substanzen wurde das Auffanggefäß in einem Eisbad gekühlt, bei lichtempfindlichen Substanzen mit lichtundurchlässiger Folie umhüllt.
Eine möglicherweise auftretende Adsorption von Pharmakon an Glas und Metall oder chemische Veränderungen während des Versuchs wurden durch einen zu jedem Versuch gleichzeitig stattfindenden Nebenversuch berücksichtigt. Bei sonst identischem Versuchsaufbau wurde hier die Perfusionslösung anstatt durch Rektumperfusionsrohr und Rattenenddarm durch ein verlängertes V2A-Röhrchen geleitet. In der Versuchsgruppe 3 tauchten die Röhrchen ein Stück weit in ein Warmwasserbad (38°C), um gleiche

Temperaturverhältnisse zu schaffen wie im Rattenenddarm. Eine Auskühlung der in Narkose befindlichen Ratten während des Versuchs wurde bei den Versuchsgruppen 1 und 2 durch Wärmelampen verhindert. Bei der VG 3 lagen die Tiere auf einer von warmem Wasser (38°C) durchströmten Metallplatte.

4. Präparation der Versuchstiere

Die Ratten wurden gewogen und wurden anschließend durch eine intraperitoneale Injektion einer 2o%igen Urethanlösung (o.6ml/loog KG) narkotisiert. Unmittelbar vor der Präparation wurden noch einmal o.15 ml/loog KG injiziert. Dann wurde mit 4-5 Stichen perianal eine Tabaksbeutelnaht angelegt. Das Rektumperfusionsrohr wurde vorsichtig eingeschoben. Die Tabaks-beutelnaht wurde über der umlaufenden Einkerbung des Perfusionsrohres zugezogen, verknotet und mit mehreren Schlingen um die Schwanzwurzel der Ratte gesichert.
Das Abdomen wurde daraufhin durch einen Medianschnitt eröffnet, das Rektum aufgesucht und proximal der Perfusionsrohrspitze abgebunden, ohne die Durchblutung des Rektums zu beeinträchtigen. Dann wurde das Abdomen durch Einzelknopfnaht verschlossen. Abbildung 2 gibt den Versuchsaufbau wieder.
Bei den Tieren der Versuchsgruppe 2 wurde zusätzlich noch distal vom Coecum ein Stück des Colons durch zwei Fadenschlingen im Abstand von einigen cm isoliert. Innerhalb dieser Schlingen wurde das Lumen am proximalen und distalen Ende eröffnet, die Enden des zu- und abführenden Röhrchens eingeführt, und der Darm über den trichterförmig erweiterten Enden der Röhrchen zugebunden. Der Darmabschnitt wurde mit isotoner NaCl-Lösung gespült.
Einige cm proximal vom Coecum wurde eine analoge Präparation am Ileum durchgeführt. Um eine Austrocknung zu vermeiden, wurde das Abdomen mit Parafilm abgedeckt.

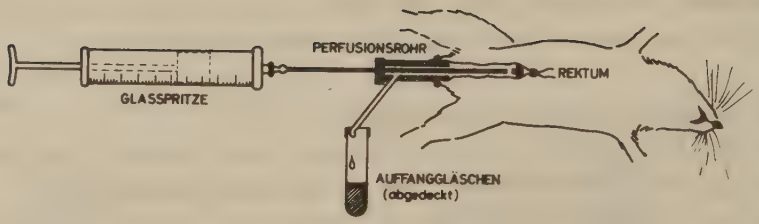


ABB. 2: Versuchsaufbau (schematisch)

5. Perfusion

Die Tiere lagen während des Versuchs auf einer Kunststoff- oder Metallplatte (s.o.). Nach der Präparation wurden die Darmabschnitte zuerst mit 2o ml Pharmakonlösung perfundiert (Geschwindigkeit 9o ml/h). Dadurch sollten eventuell noch vorhandene Darminhaltsstoffe, Sekrete und Spülflüssigkeit verdrängt werden. Dann wurde mit einer Geschwindigkeit von 3.75 ml/h 15o min. lang perfundiert. Erst 6o min. nach Beginn der langsamen Perfusion wurde die Perfusionslösung für die Konzentrationsbestimmung in Gläschen gesammelt, denn 6o min. nach Beginn der langsamen Perfusion war die schnell perfundierte Lösung aus dem Darm verdrängt.
Die isolierten Enddarmstücke der Tiere in VG 3 wurden mit isotoner NaCl-Lösung gespült, dann vorsichtig mit Luft durchblasen, um die Reste dieser Lösung zu entfernen. Anschließend wurde wie oben beschrieben perfundiert.

Im Anschluß an die Versuche wurde bei den VG 1 und 2 der pH-Wert der in den Gläschen gesammelten Perfusionslösungen mittels Mikroelektrode (Einstabmeßkette) festgestellt.

6. Präparation des Darms nach Perfusion, Blutentnahme

Die perfundierten Darmabschnitte wurden nach Beendigung der Perfusion aus dem Versuchstier herauspräpariert, der Länge nach aufgeschnitten, und die Fläche bestimmt. Bei den VG 1 und 2 wurden die Darmstücke vor der Flächenbestimmung 1 h lang in eine Atropinlösung (o.5 mmol/l Atropinsulfat in o.9% NaCl-Lösung) gelegt. Durch völlige Relaxation der glatten Muskelfasern der Darmwand konnten damit die Flächen der Präparate vergleichbar gemacht werden.
Bei VG 3 wurden die Darmstücke nach der Bestimmung der Fläche gewogen und gefriergetrocknet. Dann wurde das Trockengewicht festgestellt, und anschließend der Darm auf seinen Gehalt an Pharmakon untersucht.
Bei VG 3 wurden gleich nach Beendigung des Versuches aus der vena cava einige ml Blut entnommen und zentrifugiert. Im Blutplasma wurde die Konzentration des jeweiligen Pharmakons bestimmt.

7. Bestimmungsmethoden

Die Methode zur Bestimmung der Konzentration der Pharmaka in wässriger Lösung bzw. in flüssigem Paraffin sind in TAB. 2a (Literaturangaben) und TAB. 2b angegeben.
Zur Bestimmung der Konzentration des Pharmakons im Darmgewebe wurde das lyophilisierte Darmstück 24 h mit 1 n Säure bzw. 1 n Lauge inkubiert, damit möglicherweise im Darmgewebe verbliebene Reste des Pharmakons in die Inkubationsflüssigkeit diffundieren konnten. Nach Filtration der Inkubationsflüssigkeit wurde die Konzentration des Pharmakons bestimmt.

TAB. 2a. BESTIMMUNG DER KONZENTRATION DER PHARMAKA IN WÄSSRIGEN LÖSUNGEN

Aminophenazon	Brodie, Axelrod (1950 b)
Anilin	Bratton, Marshall (1939)
Barbital	Goldbaum (1948)
Chlorpromazin	Salzman, Brodie (1956)
Desipramin	Salzman, Brodie (1956)
Hexobarbital	Goldbaum (1948)
Methohexital	Brodie et al. (1950 a)
Nitrofurantoin	Kurz (1964)
Oxyphenbutazon	Burns et al. (1953)
Pentobarbital	Goldbaum (1948)
Phenazon	Brodie et al. (1949)
Phenol	Folin & Ciocalteu (1927) Folin & Denis (1912)
Phenylbutazon	Burns et al. (1953)
Promethazin	Salzman, Brodie (1956)
Sulfadimethoxin	Bratton, Marshall (1939)
Sulfinpyrazon	Burns et al. (1953)
Thiobutabarbital	Brodie et al. (1950 a)
Thiopental	Brodie et al. (1950 a)
Chinin	Josephson et al. (1947)
Salicylsäure	Brodie et al. (1960)

TAB. 2b. BESTIMMUNG DER KONZENTRATION DER PHARMAKA IN WÄSSRIGEN LÖSUNGEN IN FLÜSSIGEM PARAFFIN

PHARMAKON	Paraffin-Phase ml	wässrige Phase ml	Milieu		Wellenlänge nm
Aminophenazon	1	4	o.1n	HCl	260
Barbital	2	4	1.on	NaOH	254
Chinin	1	4	o.1n	HCl	250
Chlorpromazin	1	5	o.1n	HCl	255
Desipramin	1	4	o.1n	HCl	250
Hexobarbital	1	4	pH 11	Puffer°	245
Mecamylamin	1	2	o.1n	HCl×	
Pentobarbital	1	4	1.on	NaOH	240
Phenylbutazon	1	4	2.5n	NaOH	265
Salicylsäure	1.5	5	o.1n	NaOH	270/300
Sulfinpyrazon	1	4	1.on	NaOH	260
Thiobutabarbital	1	4	1.on	NaOH	305
Thiopental	1	5	1.on	NaOH	305

o pH-11-Phosphatpuffer nach GOLDBAUM (1948)

x weitere Bestimmung nach SCHANKER et al. (1957)

Paraffin-Phase und wässrige Phase werden in angegebener Menge gemischt und 2 h lang geschüttelt; die Konzentration des Pharmakons in der wässrigen Phase wird dann im Spektralphotometer bestimmt.

8. Korrektur der Konzentrationsbestimmungen

Bestandteile des Darmsekretes, die ins flüssige Paraffin übertreten, könnten die Analysenwerte verfälschen. Um die Größe eines möglichen Übertrittes feststellen zu können, wurde der Enddarm von einigen Ratten unter sonst gleichen Versuchsbedingungen mit pharmakonfreiem Paraffin durchströmt.
Die Perfusionslösungen wurden nach den Methoden zur Bestimmung der Konzentration der Pharmaka behandelt, die Extinktionswerte festgestellt, und diese zur Korrektur der Versuchsergebnisse verwendet.
Das Gewebe der mit pharmakonfreiem flüssigen Paraffin durchströmten Rattendärme wurde ebenfalls wie die mit Pharmakonlösung (in Paraffin) durchströmten Darmabschnitte behandelt. Damit sollten Fehler, die durch den Übertritt von Bestandteilen des inkubierten Darmes in die Inkubationsflüssigkeit zustandekommen können, korrigiert werden.
Wasserresorption (VG 1 und VG 2): Zur Korrektur von Meßfehlern durch Resorption von Wasser im Darm wurden einige Ratten bei gleicher Versuchsanordnung mit einer Phenolrotlösung (c=6 mcg/ml) perfundiert. Aus der Änderung der Konzentration des Phenolrotes in der Perfusionslösung wurde ein Korrekturfaktor errechnet.

9. pH-Bestimmung

Bei einer Anzahl von narkotisierten Ratten wurde der pH-Wert der Enddarmschleimhaut 4 cm proximal der Haut-Schleimhaut-Grenze mit einer Mikroelektrode (Ingold-Einstabmeßkette 4o3-3o-M8) bestimmt. Zuvor wurden 1o ml ungepufferte isotone NaCl-Lösung in den Enddarm appliziert. Der pH-Wert wurde jede Minute bis zur 1o. Minute, dann zur 12., 15. und 2o. Minute gemessen.

TAB.3 VERTEILUNGSKOEFFIZIENTEN DER PHARMAKA

Pharmakon	S,B,a	pK			Lit.
lipoide Phase	Verteilungskoeffizienten 5.4	6.5	7.4	7.7 (pH)	
Aminophenazon	B	5.1			79
Heptan	0.14	0.20	0.21	0.21	1
Oktanol		6.23	6.45	6.47	1
Chloroform		70.00	72.44	72.62	79
Anilin	B	4.6			106
Heptan	0.95	1.09	1.10	1.10	
Oktanol		7.85	7.93		70
Chloroform		25.98	26.26		44
Barbital	S	7.7			118
Heptan	2.0^{-3}	1.9^{-3}	1.3^{-3}	1.0^{-3}	1
Oktanol		0.21	0.15	0.11	70
Chloroform		0.64	0.45	0.34	1
Chinin	B	8.4			47
Heptan		1.2^{-2}	8.5^{-2}	0.16	1
Oktanol		0.84	6.15	11.25	70
Chloroform		6.15	44.93	82.20	1
Chlorpromazin	B	9.3			78, 81
Heptan	13.54	44.53	3.5^{+2}	6.9^{+2}	
Oktanol		4.9^{+2}	3.8^{+3}	7.5^{+3}	70
Chloroform		10.20	80.00	1.6^{+2}	3
Desipramin	B	10.2			35
Heptan	0.07	0.89	7.06	14.06	
Oktanol		3.78	30.00	59.76	
Chloroform		1.32	10.45	20.83	70
Hexobarbital	S	8.2			54
Heptan	0.22	0.21	0.19	0.16	
Oktanol		31.40	26.70	23.50	70
Chloroform		1.3^{+2}	1.1^{+2}	97.90	70
Mecamylamin	B	11.2			106
Heptan		0.50	4.00	7.98	
Oktanol		0.71	5.62	11.22	
Chloroform		0.61	4.87	9.71	

Pharmakon	S,B,a	pK			Lit.
lipoide Phase	Verteilungskoeffizienten 5.4	6.5	7.4	7.7 (pH)	
Methohexital	S	7.9			16
Heptan	6.49	6.27	4.95	4.00	
Oktanol		4.0^{+2}	3.2^{+2}		1
Nitrofurantoin	S	7.2			89
Heptan		1.5^{-6}	0.7^{-6}	4.3^{-7}	
Oxyphenbutazon	S	4.7			24
Heptan	1.00	0.09	1.2^{-2}	0.6^{-2}	
Oktanol		29.73	3.79		70
Pentobarbital	S	8.0			16
Heptan	5.2^{-2}	5.1^{-2}	4.2^{-2}	3.5^{-2}	1
Oktanol		1.4^{+2}	1.1^{+2}	93.10	1
Chloroform		27.60	22.80	19.00	1
Phenazon	B	1.4			79
Heptan	5.0^{-3}	5.0^{-3}	5.0^{-3}	5.0^{-3}	44
Oktanol		1.70	1.70		79
Chloroform		21.40	21.40		44
Phenol	S	9.9			109
Heptan	0.12	0.12	0.12	0.12	70
Oktanol		28.83	28.75		70
Chloroform		2.19	2.18		70
Phenylbutazon	S	4.5			24
Heptan	0.56	0.50	0.28	0.19	
Oktanol		18.35	2.33	1.17	1
Chloroform		-	-	-	
Promethazin	B	9.1			78
Heptan	2.71	34.10	2.7^{+2}	5.2^{+2}	
Chloroform		4.66	36.40		3
Salicylsäure	S	3.0			79
Heptan		4.0^{-4}	5.0^{-5}	2.4^{-5}	
Oktanol		5.8^{-2}	0.7^{-2}	3.6^{-3}	70
Chloroform		9.5^{-4}	1.2^{-4}	0.6^{-4}	70

TAB.3 VERTEILUNGSKOEFFIZIENTEN DER PHARMAKA (Forts.)

Pharmakon	S,B,a	pK				Lit.
lipoide Phase	Verteilungskoeffizienten					
	5.4	6.5	7.4	7.7 (pH)		
Sulfadimethoxin	a	6.32				94
Heptan				5.2^{-5}		
Oktanol				1.87		
Chloroform (pH 6.4)		12.o7				7o
Sulfinpyrazon	s	2.8				24
Heptan			7.9^{-2}	1.o^{-2}	o.5^{-2}	1
Oktanol			4.o^{-2}	5.o^{-3}	2.5^{-3}	7o
Thiobutabarbital	S	7.4				
Heptan	o.56	o.5o	o.28	o.19		1
Oktanol		2.9+2	1.6+2	1.1+2		1
Chloroform		1.1+2	62.oo	41.4o		1
Thiopental	S	7.45				16, 54
Heptan	1.91	1.7o	1.oo	o.68		1
Oktanol		1.o+4	6.1+3	4.1+3		1
Chloroform		3.3+2	1.9+2	1.3+2		1

S Säure, B Base, a amphotere Substanz

Die Werte in den 4 Spalten geben die Verteilungskoeffizienten der Pharmaka bei pH 5.4, 6.5, 7.4 und 7.7 an.
Die Verteilungskoeffizienten wurden den in der letzten Spalte (Lit.) als Nummern angegebenen Literaturstellen entnommen. Die Werte wurden ohne Korrektur auf den gewünschten pH-Wert umgerechnet. Werte ohne Literaturangabe: Bestimmungen der Gruppe Prof. KURZ, Pharmakolog. Institut der Universität München.
Die hinter einigen Zahlen auftretende Potenz (z.B. +2 oder $^{-3}$) gibt die Höhe der Exponentialfunktion zur Basis 1o an (also eigentlich $\cdot 1o^{2}$ oder $\cdot 1o^{-3}$).

1O. Verteilungskoeffizienten

Die Verteilungskoeffizienten wurden zum Teil der Literatur entnommen und auf die erforderlichen pH-Werte umgerechnet. Zum Teil konnte auf im eigenen Arbeitskreis bestimmte Werte zurückgegriffen werden (TAB. 3). Die folgenden Werte wurden selbst bestimmt: Die Verteilungskoeffizienten (VK) von Mecamylamin zwischen Chloroform und Wasser bzw. Oktanol und Wasser und der VK von Phenylbutazon zwischen Chloroform und Wasser. Die Ausgangskonzentration in wässriger Lösung betrug bei Mecamylamin $1o^{-3}$ mol/l, bei Phenylbutazon $1o^{-4}$ mol/l.

Das Volumenverhältnis von organischer Phase zu wässriger Phase betrug 1o:1. Die wässrige Phase wurde durch einen o.o5 molaren Phosphatpuffer auf dem pH-Wert 7.4 gehalten. Für jede Substanz wurden 8 Messungen durchgeführt.

11. Rechnerische Auswertung

Die im Enddarm resorbierte Menge des Pharmakons wurde aus der Konzentration des Pharmakons vor und nach der Perfusion des Darmstückes nach der folgenden Gleichung errechnet:

$$(1) \quad 100 - \frac{c_t}{c_o} \cdot 100 = \% \text{ resorbiert}$$

c_o = Konzentration des Pharmakons vor der Perfusion
c_t = Konzentration des Pharmakons nach der Perfusion

Die Ausgangskonzentration betrug bei den meisten Pharmaka 10^{-4} mol/l = 100 nmol/ml. Die pro ml resorbierte Menge in nmol kann also analog zu Gleichung (1) ausgedrückt werden:

$$(2) \quad 100 \text{ nmol/ml} - \frac{c_t}{c_o} \cdot 100 = \text{nmol/ml resorbiert}$$

Einige Pharmaka wurden in einer geringeren Ausgangskonzentration perfundiert (TAB. 1). Um alle Ergebnisse miteinander vergleichen zu können, wurden die Resorptionswerte dieser Substanzen mit einem Faktor multipliziert, der die daraus resultierende geringere Resorption rechnerisch ausgleicht. Dieser Faktor ist der Quotient aus dem Dividenden 100 nmol/ml und der besonderen (geringeren) Ausgangskonzentration in nmol/ml als Divisor.

Die Menge des resorbierten Pharmakons hängt von der Größe der resorbierenden Fläche ab. Die resorbierende Fläche des Enddarms wurde aus der Breite des nach der Entnahme aufgeschnittenen Darms und der Länge des Perfusionsrohres von der Spitze bis zur Ableitvorrichtung (50 mm) errechnet. Die errechnete resorbierte Menge in nmol/ml wurde auf 1 mm^2 Flächeneinheit bezogen und in pmol/(ml $\cdot$ mm^2) ausgedrückt.

Bei den vergleichenden Untersuchungen an Ileum, Colon und End-

darm (Versuchsgruppe 2) war die perfundierte Länge von Ileum und Colon nicht wie beim Enddarm auf 5o mm fixiert. Die Darmstücke waren zum Teil erheblich länger. Bei langen Darmstücken von geringem Durchmesser mußte mit einer wesentlichen Konzentrationsabnahme des Pharmakons während der Passage gerechnet werden. Eine einfache Division der resorbierten Pharmakonmenge durch die gemessene Fläche des Darmstücks zur Bestimmung der mittleren Resorption hätte daher zu erheblichen Fehlern geführt.
Vom Anfangssegment, an dem die Lösung zugeführt wird, bis zum Endsegment, an dem sie abgeleitet wird, ist der resorbierte Anteil in jedem Teilsegment des Darms im Verhältnis zur dort herrschenden Konzentration gleich. Voraussetzung ist eine gleichmäßige laminare Strömung im perfundierten Darmabschnitt und eine passive Diffusion des Pharmakons durch die Darmwand. Die Konzentration nimmt, bezogen auf die Länge des perfundierten Darmabschnittes, exponentiell ab. Die Fläche des Darmabschnittes ist direkt proportional zur Länge des Darmabschnittes und kann deshalb rechnerisch anstatt der Länge eingesetzt werden.

$$(3) \quad c_t = c_o \cdot e^{-K \cdot A}$$

$$(4) \quad K = \ln \frac{c_o}{c_t} \cdot A^{-1}$$

K = Konstante der Konzentrationsabnahme
A = Fläche des perfundierten Darmabschnittes

Mit Hilfe von K wurde die mittlere Resorption des Darmabschnitts auf eine Fläche von 5oo mm^2 bezogen (s. Gleichung (5)). Die Fläche von 5oo mm^2 wurde gewählt, weil sie einer Länge von ungefähr 5o mm Dünndarm und damit der Länge des perfundierten Enddarms entsprach.

(5) $c_{korr} = c_o \cdot e^{-K \cdot 500\ mm^2}$

c_{korr} = Konzentration nach Perfusion eines 500 mm^2 messenden Darmabschnittes (Korrektur)

Das Ergebnis wurde dann weiter rechnerisch nach den Gleichungen (1) und (2) behandelt.

Berechnung der Adsorption an Darmgewebe.

Die Adsorption eines Pharmakons an das Darmgewebe wurde aus der Konzentration des Pharmakons in der Flüssigkeit bestimmt, in welche der perfundierte Darmabschnitt inkubiert wurde (s. Methodik, 8.). Der erhaltene Wert wurde durch einen Wert korrigiert, welcher nach Perfusion des entsprechenden Darmabschnittes mit pharmakonfreiem Paraffin bestimmt wurde. Er wird in nmol der pro ml Perfusionslösung und pro mg Trockengewicht des Darms aus der Perfusionslösung verschwundenen Pharmakonmenge angegeben (Gleichung (6)):

(6) $A\left(\frac{nmol}{ml \cdot mg}\right) = \frac{c_p - c_o}{c_e} \cdot c_e\left(\frac{nmol}{ml}\right) \cdot i(ml) \cdot TG^{-1}(mg^{-1}) \cdot 9{,}375^{-1}(ml^{-1})$

A = Adsorption in nmol pro ml Perfusionslösung und mg Trockengewicht des Darmabschnittes

c_o = Konzentration der Inkubationslösung des mit reinem flüssigen Paraffin durchströmten Darmabschnittes.

c_p = Konzentration der Inkubationslösung des mit Pharmakonlösung perfundierten Darmabschnittes.

c_e = Konzentration der Eichlösung (100 nmol/ml)

i = Volumen der Inkubationslösung (ml)

TG = Trockengewicht des Darmabschnitts (mg)

9,375 = Volumen der perfundierten Lösung (ml)

Statistische Auswertung:

Die angegebenen Resorptionswerte sind Mittelwerte aus den Versuchen, die für jedes Pharmakon durchgeführt wurden. Für jeden

Versuch wurden 12 Tiere eingesetzt, wobei von 8-11 Tieren auswertbare Ergebnisse erhalten wurden (s. auch DISKUSSION A, 7.)
Außer der Berechnung der Standardabweichung des Mittelwerts wurden folgende statistische Berechnungen vorgenommen.
Zur Quantifizierung statistischer Zusammenhänge wurden Korrelationsanalysen (nach PEARSON & BRAVAIS) und Regressionsanalysen durchgeführt.
Rangkorrelationen wurden mit Hilfe des SPEARMAN'schen Rangkorrelationskoeffizienten bestimmt.
Die Resorption aus Colon, Ileum und Enddarm (VG 2) wurde mittels der einfachen Varianzanalyse geprüft. Die Lokalisation der Mittelwertsunterschiede bei signifikantem F-Wert erfolgte durch den "multiple-range-test" nach DUNCAN. Da bei Nitrofurantoin die Voraussetzungen für einen parametrischen Test - Normalverteilung und Gleichheit der Varianzen - nicht gegeben waren, wurden Colon- und Enddarmresorption mit Hilfe des U-Testes (nach MANN und WHITNEY) verglichen. Die Resorption im Ileum war für Nitrofurantoin unmeßbar klein.
Die hier benützten statistischen Formeln und Tabellen wurden den Büchern "Angewandte Statistik" (1975) und "Statistische Methoden" (1976) von L. SACHS entnommen.

12. Viskositätsmessung:

Viskositätsmessungen des flüssigen Paraffins und von aqua demin. wurden am VISKOTESTER VT 18o (Fa. HAAKE, Berlin) durchgeführt. Die Viskosität wurde bei verschiedenen Stufen gemessen (Einheit cP = Centipoise ($g \cdot cm^{-1} \cdot s^{-1}$)).

	Wasser		dünnflüss. Paraffin			
Temp. °C	22	38	o	1o	22	38
cP	1.o	o.6	88.1	5o.o	27.7	13.7

In TAB. 4 sind die Werte für die Resorption von Pharmaka aus wässrigen Lösungen im Enddarm der Ratte wiedergegeben (Versuchsgruppe 1). Die Ausgangskonzentration der Lösung beträgt meistens 100 nmol/ml (=10^5 pmol/ml). Legt man die mittlere resorbierende Darmfläche aus einigen unserer Versuche (n=34) zugrunde, so kommen auf jeden mm^2 resorbierende Darmoberfläche ungefähr 145 pmol Testsubstanz pro ml Perfusionslösung.
Die Resorptionswerte liegen zwischen 5 (Nitrofurantoin) und 60 pmol/(ml·mm^2) (Phenothiazine). Bei pH 7.4 sind Desipramin und Phenylbutazon von allen verwendeten Substanzen am stärksten ionisiert. Beide Substanzen werden gut resorbiert.
In TAB. 5 sind die Resorptionswerte der vergleichenden Untersuchungen an Ileum, Colon und Enddarm aufgeführt (Versuchsgruppe 2). Die Substanzen sind hier wie auch in TAB. 4 nach zunehmender Resorption geordnet. Dabei fällt auf, daß die Reihenfolge der Substanzen bei den einzelnen Darmabschnitten nicht völlig gleich ist. Die Werte für die Resorption liegen in allen Darmabschnitten in der gleichen Größenordnung. Dabei werden im Colon die höchsten Werte gemessen. Hier weicht die Reihenfolge der Pharmaka auch am stärksten von der am Enddarm gefundenen ab.
Eine Beziehung zwischen Dissoziationskonstante (pK) und dem Ausmaß der Resorption läßt sich aus den Meßwerten nicht ableiten. Allerdings wurden Säuren mit einem pK-Wert unter 4 nicht untersucht. Basische Elektrolyte wurden auch dann gut resorbiert, wenn ihr pK-Wert über 8.5 lag. Das ist der Grenzwert für eine gute Resorption, den SCHANKER (1959) für das Colon angegeben hat. Der entsprechende Wert für das Ileum liegt bei pK 9.0 (SCHANKER et al. 1958).
In TAB. 6 sind die Werte der Resorption von Pharmaka aus flüssigem Paraffin im Rattenenddarm zusammengefaßt. (Versuchsgruppe 3). Die Pharmaka sind auch hier nach abnehmender Größe des Resorptionswertes geordnet. Die Reihenfolge der Pharmaka hat

TAB. 4 RESORPTION IM ENDDARM DER RATTE AUS WÄSSRIGEN LÖSUNGEN (Versuchgruppe 1)

Pharmakon	R	$\pm S_{\bar{x}}$	n	$\overline{pH}$
Desipramin	64.33	4.39	1o	7.3
Chlorpromazin	6o.98	2.88	23	7.5
Promethazin	6o.24	6.35	1o	7.4
Thiopental	53.66	3.37	22	7.5
Thiobutabarbital	52.97	3.79	9	7.3
Anilin	47.5	6.o5	11	7.1
Hexobarbital	4o.76	2.4	9	7.5
Phenylbutazon	39.82	1.84	21	7.3
Pentobarbital	37.29	3.o3	11	7.5
Phenol	36.22	2.8	8	7.4
Methohexital	32.91	2.59	9	7.4
Aminopyrin	27.23	1.57	1o	7.2
Oxyphenbutazon	25.68	4.o7	7	7.6
Barbital	23.4	1.89	8	7.3
Sulfadimethoxin	9.96	2.3	7	7.3
Phenazon	7.o3	1.21	1o	7.2
Nitrofurantoin	5.42	1.13	14	7.4
				$\bar{x}$ 7.4

R = mittlere Resorption während des 9o min. dauernden Versuchs in pmol/(ml·mm^2)

$S_{\bar{x}}$ = Standardabweichung des Mittelwertes

n = Anzahl der Versuchstiere

$\overline{pH}$ = Mittelwert der pH-Werte, die in den Lösungen nach Perfusion gemessen wurden

sich im Vergleich zu TAB. 4 völlig geändert. Die Werte liegen aber auch hier in der gleichen Größenordnung wie bei den anderen Versuchsgruppen. Eine Wechselbeziehung zwischen dem Ionisationsgrad der Pharmaka bei pH 7.4 und dem Resorptionswert ist nicht ersichtlich.

Von der Bestimmung der Adsorption von Pharmaka an das Darmgewebe und der Messung der Konzentration der Pharmaka im Blutplasma konnte bei den geringen Konzentrationen kein quantitatives Ergebnis erwartet werden. Anhand der Ergebnisse konnte nur beurteilt werden, ob überhaupt messbare Mengen des Pharmakons in das Darmgewebe bzw. das Blut übergetreten waren. Von den meisten Pharmaka konnten keine meßbaren Mengen im Darmgewebe nachgewiesen werden. Nur für Salicylsäure und Hexobarbital ergaben sich meßbare Werte (TAB. 7). Dabei wurde nicht untersucht, in welcher Gewebeschicht sich die Substanzen befanden. Die nach der Perfusion der Versuchstiere erhaltenen Werte für die Konzentration der Pharmaka im Plasma lagen wegen ihrer geringen Größe innerhalb der Fehlerbreite der Methode. In keinem Falle konnte eine Konzentration nachgewiesen werden, die hoch genug gewesen wäre, um die Resorption aus dem Darmlumen über eine Verringerung des Konzentrationsgradienten zu beeinflussen.

Abb. 3 gibt die Veränderung des pH-Wertes im Enddarm der Ratte über einen Zeitraum von 15-2o min. wieder. Nach 15 min. steigt der pH-Wert nur noch sehr gering an. Die Verzögerung bei der Einstellung des pH-Wertes kommt möglicherweise durch die bei der Dehnung des Darms einsetzende vermehrte Sekretion der Becherzellen des Enddarms zustande (GANONG, 1975).

TAB. 5 RESORPTION IM ILEUM, COLON UND ENDDARM DER RATTE AUS WÄSSRIGEN LÖSUNGEN (Versuchsgruppe 2)

	Pharmakon	R	$\pm S_{\bar{x}}$	n	$\overline{pH}$
ILEUM	Desipramin	96.9	8.24	8	7.6
	Chlorpromazin	92.88	9.65	9	7.6
	Anilin	67.21	9.9	1o	7.8
	Thiopental	61.71	5.1	1o	7.8
	Aminopyrin	37.6	4.4	1o	7.7
	Phenylbutazon	35.9	3.68	1o	7.7
	Phenol	23.o5	5.87	9	7.7
	Phenazon	15.3	1.57	1o	7.9
	Nitrofurantoin	.2	.o14	12	8.o
					$\bar{x}$ 7.8
COLON	Desipramin	1o3.81	9.84	8	7.2
	Thiopental	83.79	8.4	1o	7.o
	Phenylbutazon	77.39	7.6	1o	7.o
	Anilin	76.3	5.7	1o	6.8
	Chlorpromazin	7o.75	14.82	9	6.7
	Aminopyrin	46.61	5.7	1o	7.1
	Phenol	43.92	1o.53	8	7.2
	Phenazon	13.9	3.8	1o	7.o
	Nitrofurantoin	7.39	.325	7	7.o
					$\bar{x}$ 7.o
ENDDARM	Desipramin	84.19	6.o6	8	7.3
	Chlorpromazin	75.41	6.35	9	7.3
	Thiopental	63.9	6.5	1o	7.4
	Anilin	5o.4	7.2	1o	7.1
	Phenylbutazon	44.5	2.5	1o	7.2
	Phenol	38.9	1.o4	8	7.4
	Aminopyrin	3o.5	2.1	1o	7.2
	Phenazon	7.5	1.3	1o	7.2
	Nitrofurantoin	3.89	1.47	5	7.3
					$\bar{x}$ 7.3

Legende: R = mittlere Resorption während des 9o min. dauernden Versuchs in pmol/(ml·mm²)
$S_{\bar{x}}$ = Standardabweichung des Mittelwerts
n = Anzahl der Versuchstiere
$\overline{pH}$ = Mittelwert der pH-Werte, die in den Lösungen nach Perfusion gemessen wurden.

TAB. 6 RESORPTION IM ENDDARM DER RATTE AUS LÖSUNGEN IN FLÜSSIGEM PARAFFIN (Versuchsgruppe 3)

	Pharmakon	R	$\pm s_{\bar{x}}$	n	% n. ion.
1	Salicylsäure	91.o15	6.1o4	1o	o.oo4
2	Barbital	59.499	3.364	11	6o.61
3	Pentobarbital	54.284	3.423	1o	79.92
4	Sulfinpyrazon	5o.295	5.o28	8	o.oo3
5	Aminophenazon	33.3oo	2.521	1o	9.95
6	Thiobutabarbital	31.911	3.462	8	5o.oo
7	Mecamylamin	26.289	3.194	8	o.o16
8	Phenylbutazon	25.497	3.767	9	o.o13
9	Chinin	22.357	2.5o3	9	9.o9
1o	Hexobarbital	19.592	2.927	1o	83.3o
11	Desipramin	14.241	1.612	9	o.16
12	Thiopental	14.o54	1.935	11	52.88
13	Chlorpromazin	1.233	o.665	9	1.24

Legende: R = mittlere Resorption während des 9o min. dauernden Versuchs in pmol/(ml·mm^2)

$S_{\bar{x}}$ = Standardabweichung des Mittelwertes

n = Anzahl der Versuchstiere

% n. ion. = Prozentsatz des pH 7.4 nicht ionisierten Pharmakons

TAB. 7 ADSORPTION VON PHARMAKA AN DARMGEWEBE (VG 3)

Die Resorption, die sich aus der Konzentrationsdifferenz der Perfusionslösung vor und nach der Perfusion ergibt, ist hier auf 1 mg Trockengewicht (TG) des Darmstücks bezogen. Dazu ist die Adsorption in % des resorbierten Anteils angegeben.

	RESORPTION			% ADSORPTION		
Pharmakon	pmol / ml·mgTG	± S	n	% ads.	± S	n
Salicylsäure	675.9	175.o	1o	8.34	3.21	9
Hexobarbital	132.6	75.8	1o	23.93	6.35	9

% ads. = adsorbierte Menge in % der resorbierten Menge

s = Standardabweichung

n = Anzahl der Versuche

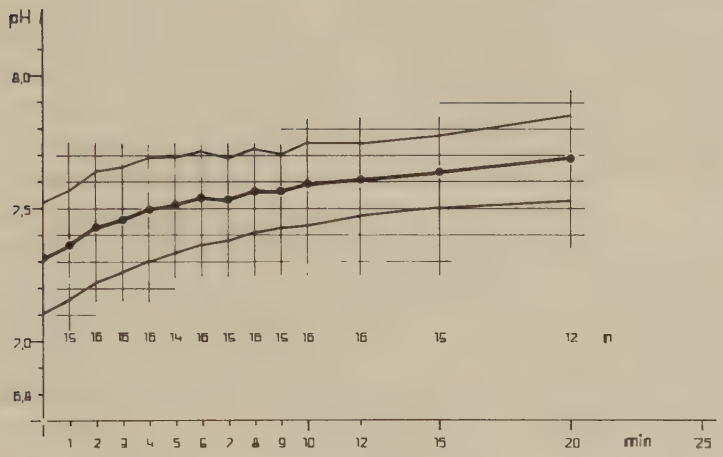


ABB.3: Veränderungen des pH-Wertes im Enddarm der Ratte nach Einführung einer Mikroelektrode ca. 4 cm weit in den Enddarm. Die mittlere fett gezeichnete Linie gibt den Mittelwert an, die oben und unten liegenden feinen Linien markieren die Standardabweichung des Mittelwerts. Darunter ist die Zahl der Meßwerte (Ratten, n) angegeben.

A KRITIK DER METHODE

Bestimmung der Resorption:

Die intestinale Resorption wird von BARR et al. (1970) als das Verschwinden einer Substanz aus dem Darmlumen und das Erscheinen in unveränderter Form im Pfortaderblut oder in der Darmlymphe definiert. Unter dieser Voraussetzung erweist sich die Messung der aus dem Darmlumen verschwundenen Menge eines Pharmakons als ungenügend zur Bestimmung der Resorption. Andere Faktoren wie Biotransformation, Anhäufung in der Darmwand wegen eines andersartigen physikalisch-chemischen Milieus, unspezifische Bindung, oder die Durchblutungsrate beeinflussen den Transport eines Pharmakons vom Darmlumen ins Pfortaderblut. Betrachtet man jedoch die Resorption nicht unter dem Aspekt des Erscheinens einer Substanz im Blut (bioavailability), sondern will man nur einen Zusammenhang zwischen den physikalisch-chemischen Eigenschaften einer Substanz und ihrer Durchdringungsfähigkeit durch biologische Membranen untersuchen, so kann man die aus dem Darmlumen verschwundene Menge als Bewertungsmaß dafür benutzen, wenn die angewandten Konzentrationen der untersuchten Pharmaka niedrig gehalten werden. In diesem Zusammenhang wirkt sich außerdem als günstig aus, daß im Gegensatz zu den in vitro-Untersuchungen bei den Untersuchungen in vivo durch die erhalten gebliebene Darmdurchblutung und die Biotransformation ein relativ gleichbleibender Konzentrationsgradient zustandekommt. Außerdem haben in vitro-Versuche den Nachteil, daß bei länger dauernden Versuchen die Eigenschaften der Darmwand verändert werden (loss of integrity, PERRIER et al. 1973).

Art der Methode

Zur quantitativen Bestimmung der Resorption im Magen-Darm-Trakt lassen sich grundsätzlich zwei Verfahren unterscheiden:

a) die in vitro-Methode nach WILSON et al (1954). Der Darm wird dabei dem Versuchstier entnommen, gewendet (so daß die Mucosa außen liegt) und als Membran in ein Zweikammer-System eingebaut (everted sac). Als Modifikation kann die Versuchsanordnung von SMYTH et al. (1957) gelten, d. h. ein non-everted sac, umgeben von Luft. Ein Vergleich und eine Bewertung der Methoden findet man bei BARR et al. (1970), PERRIER et al. (1973) und LEVIN (1967).

b) die hier angewandte Perfusion eines in vivo isolierten Darmabschnittes. Die physiologischen Gegebenheiten werden hierbei so wenig wie möglich verändert. Der Resorptionswert wird aus der Differenz der Konzentrationen der Pharmakonlösung vor und nach Perfusion bestimmt (SCHANKER et al. 1958). Als weitere Möglichkeit kann die Pharmakonlösung in einen in vivo isolierten Darmsack gegeben und nach einer festgelegten Zeitspanne entnommen werden (SCHANKER et al. 1957). SCHANKER et al. (1958) beschreiben als dritte Möglichkeit die Rezirkulation einer Lösung durch ein in vivo isoliertes Darmsegment.

1. Vorbereitungen zur Präparation der Tiere

Den Ratten wurde bei den Versuchsgruppen (VG) 1 und 2 24 h, bei VG 3 48 h vor Versuchsbeginn das Futter entzogen, um den Enddarm vor der Präparation möglichst frei von faeces zu halten. Ein möglicher Einfluß des Hungerns auf die Permeabilität der Darmwand wurde nicht berücksichtigt, da er sich auf alle Tiere gleich auswirken müßte. SANFORD et al. (1973) verneinten einen solchen Einfluß, während LEVINEet al. (1961) feststellten, daß mit steigender Dauer des Hungerns die Resorption von Pharmaka zunahm. DOLUISIO et al. (1969 b) beobachteten, daß während einer Hungerperiode nach einer Latenzzeit von 2o h die Resorption proportional zur Länge der Fastenzeit anstieg.

Die Urethannarkose wurde gewählt, weil bei der Untersuchung von Barbituraten eine Barbituratnarkose die Konzentrationsgradienden im Darm verändert hätte.

2. Präparation der Tiere

Die Resorption von gut permeierenden Substanzen ist durchblutungsabhängig (WINNE et al. 1970, 1971; OCHSENFARTH 1969). Hierbei wird, im Gegensatz zu schlechter permeierenden Substanzen, nicht der hohe Widerstand des Darmepithels, sondern die Durchblutung des Darms zum begrenzenden Faktor. Deshalb wurde bei der Präparation auf die Erhaltung der großen Gefässe des Darmes und Mesenteriums geachtet.
Die histologische Untersuchung des Enddarmes nach der Perfusion einiger Tiere zeigte, daß das Darmperfusionsrohr das Epithel der Darmwand nicht verletzt hatte.

3. Perfusion

In der von uns gewählten Versuchsanordnung wurde die Perfusionslösung erst nach über einstündiger Perfusion zur Analyse gesammelt. Es wurde nicht nachgeprüft, ob durch die Perfusionsdauer eine Änderung der Resorptionsgeschwindigkeit beim in vivo-Versuch eintritt. WINNE et al. (1971) fanden bei einigen Pharmaka nach längerer Perfusion eine Verminderung der Resorption, deren Ursachen jedoch unbekannt blieben. Die Strömungsgeschwindigkeit der Perfusion (3.75 ml/h) wurde in Vorversuchen festgelegt. Sie erwies sich für das kurze perfundierte Darmstück als der beste Kompromiß zwischen der notwendigen Kontaktdauer der Lösung mit der Darmwand und der Versuchsdauer (Probemenge). SCHANKER (1959), SCHANKER et al. (1958) und KOIZUMI et al. (1964b) perfundierten bei ähnlicher Versuchsanordnung mit höheren Strömungsgeschwindigkeiten. Bei einigen Versuchsreihen ließen sie die Perfusionslösung rezirkulieren. Bei ihren Versuchen perfundierten sie auch längere Darmsegmente. Ob sie eine Adsorption an die von ihnen ver-

wendeten zu- und wegführenden Kunststoffschläuche in Betracht zogen, konnte aus ihren Publikationen nicht entnommen werden. Literaturhinweise über einen nicht passiven Transport der hier verwendeten Pharmaka wurden nicht gefunden. Geschieht der Transport der Pharmaka durch die Darmwand durch passive Diffusion, so ist neben Parametern wie Hydrophobie und Ionisationsgröße der Pharmaka vor allem der Konzentrationsgradient zwischen Darmlumen und Blutgefäß bestimmend.

4. Kontrollversuche

Parallel zu Perfusionsversuchen an je zwei Ratten wurde ein Kontrollversuch mit Perfusion durch ein Metallröhrchen anstatt durch ein Darmsegment bei sonst gleichen Versuchsbedingungen durchgeführt (Methodik, 3.). Dadurch sollten systematische Fehler durch Adsorption von Pharmakon an Glas und Metall ausgeschaltet werden. Eine wesentliche Adsorption konnte nicht festgestellt werden. Die Adsorption an Materialien kann die Versuchsergebnisse unter Umständen erheblich beeinflußen. So berichteten BOSSE et al. (1967) über die Adsorption von Histamin an Glas, die bei einer Lösungskonzentration von weniger als 1 nmol/ml 75 % erreichte.

5. Konzentration der Pharmaka im Blutplasma

Die Konzentration der Testsubstanzen im Plasma lag unter der mit den angewendeten Methoden spektrophotometrisch erfaßbaren Grenze und war deshalb gegenüber der Konzentration in der Perfusionslösung verschwindend gering. Sie brauchte daher bei der Berechnung der Resorption nicht berücksichtigt zu werden.

6. Wassernettofluß

Bei der Perfusion mit isotonen Lösungen ist der Wassernettofluß aus dem Darmlumen ins Gefäßsystem gering (KOJIMA et al. 1972, LEVY et al. 1965, SCHANKER et al. 1958). KOJIMA et al.

fanden, daß bei Perfusion mit isotonen Lösungen nach Ende der Perfusion die Lösungen geringgradig hyperton waren.
Bei einigen Versuchen der Versuchsgruppe 1 (n=12) wurde zur Kontrolle des Wassernettoflusses der Lösung Phenolrot (c=6mg/l) zugesetzt. Phenolrot, eine starke Sulfonsäure, die schon bei pH1 praktisch vollständig dissoziiert ist, wird nicht (SCHANKER et al. 1957,1958, SCHANKER 1959) oder nur in geringem Umfang (COOPERSTEIN et al. 1959, LEVINE 1961, REYNELL et al. 1956, TIDBALL 1964a,b) resorbiert (2-3%). KUNZE et al. (1967) und KUNZE (1968) fanden, daß Phenolrot im Dünndarm der Ratte in sehr kleinen Mengen aktiv transportiert werden kann. Bei größeren Konzentrationen war die Resorption hauptsächlich durch passive Resorption bestimmt (3.3 %).
Bei unseren Untersuchungen brauchte eine eventuell stattfindende Resorption des Phenolrots wegen des begrenzten, durchschnittlich 1o min. dauernden Aufenthalts der Perfusionslösung im Enddarm nicht berücksichtigt zu werden. Die Wassernettoresorption lag im Enddarm bei 2.3 $\pm$1.35 %, im Ileum bei o.3 $\pm$4.o %, im Colon bei o.6$\pm$1.9 %, war also im Vergleich zu den Resorptionswerten der meisten Pharmaka vernachlässigbar klein.
Polyaethylenglycol, eine Substanz, die ebenfalls nicht resorbiert wird, kam wegen der möglichen Komplexbildung mit Pharmaka (HIGUCHI et al. 1954) nicht in Betracht.

7. Verunreinigung

Trotz Entzug der Nahrung 24 bzw. 48 h vor Versuchsbeginn und sorgfältiger Vorspülung des Darms konnte eine Kontamination der Perfusionsflüssigkeit mit faeces-Resten erfolgen, die sich in einer Trübung und Verfärbung der Perfusionslösung zeigte. Durch den möglichen Gehalt der faeces an Fett und seinen Spaltprodukten (GANONG 1975) könnte die Resorption verfälscht werden. Möglicherweise vorliegende oberflächen-

aktive Substanzen wie Fettsäuren könnten die Resorption eines hydrophilen Pharmakons erhöhen (LEVINE 1961), die Resorption eines hydrophoben Pharmakons aber verringern (KAKEMI et al. 1965c).
Durch faeces und durch losgelöste Epithelien konnte auch der Abfluß der Perfusionslösung behindert oder gänzlich unterbrochen werden. Dadurch konnte es zu einer Dehnung des Darmes kommen. Der dabei erhöhte hydrostatische Druck kann einerseits zur verstärkten Resorption durch Vergrößerung der Darmoberfläche führen (KOJIMA et al. 1972), er könnte andererseits aber auch durch Verschluß der Kapillaren die Resorption negativ beeinflussen.
Versuche, bei welchen eine Verfärbung und Trübung der Perfusionslösung oder eine Dehnung des Darms auftraten, wurden daher von der Auswertung der Ergebnisse ausgenommen.

8. Kontrolluntersuchungen

Die Konzentrationen der Pharmaka vor und nach Perfusion wurden alle durch Extraktionsmethoden gemessen, um eine Verfälschung der Ergebnisse durch Sekrete, die in die Perfusionslösung gelangt sein können, auszuschließen. Eine Kontrollperfusion mit Perfusionslösung ohne Pharmakon wurde bei VG 3 für alle Pharmaka durchgeführt. Es zeigte sich, daß eine Kontamination der Perfusionslösung durch Sekrete die Bestimmung der Pharmakon-Konzentration nicht störte. In der Versuchsgruppe 3 wurde mit der Extraktionsmethode auch die Konzentration des in der Darmwand verbliebenen Pharmakons bestimmt.
LEVINE et al. (1961) homogenisierten das Darmgewebe und präzipitierten das Eiweiß, WINNE et al. (1971) arbeiteten mit radioaktiv markiertem Wirkstoff. KAKEMI et al. bestimmten die Mucosabindung mit Hilfe der Gleichgewichtsdialyse (1967,c) oder durch Ultrafiltration (1969a). Bei der großen Zahl unserer Versuche erschien uns der Aufwand einer Gleichgewichtsdialyse

zu groß. Außerdem war für das beabsichtigte Ziel lediglich eine Kontrolle und keine exakte quantitative Bestimmung des Pharmakongehaltes nötig.

9. Viskosität

Das in Versuchsgruppe 3 verwendete flüssige Paraffin hat bei 38°C eine gegenüber Wasser (o.6 cP) erhöhte Viskosität von 13 cP, welche die Diffusionsgeschwindigkeit beeinflussen kann. Die Diffusion des Wirkstoffes im Lumen zur Mucosa kann jedoch einen geschwindigkeitsbestimmenden Faktor darstellen (HOGBEN et al. 1958, HOGBEN 1960, KOIZUMI et al. 1964a, RIEGELMAN et al. 1958a, SCHANKER et al. 1957,1958). LEVY et al. (1965) stellten bei Versuchen im Magen von Ratten fest, daß Salicylsäure und Aethanol aus wässrigen Lösungen von 95 cP Viskosität signifikant weniger resorbiert wurden ($p < o.o5$). Bei in vivo-Versuchen am Menschen mit hochviskösen Nitrofurantoin-Methylcelluloselösungen beobachtete SEAGER (1968) ein verzögertes Erscheinen des Nitrofurantoins im Harn. Nach DAVISON et al. (1961) bewirkt die Gabe von Na-Salicylat in Lösungen niedriger Viskosität an Ratten eine höhere Resorption als in höher viskösen Lösungen.

Dieser Viskositätseffekt kann aber wieder durch längere Verweildauer der Lösungen an der Schleimhaut reduziert werden. Die erhöhte Viskosität des flüssigen Paraffins bewirkte bei Versuchen der Versuchsgruppe 3 wegen des verlangsamten Abflusses durch den engen Spalt des Darmperfusionsrohres eine Entfaltung des Rektums und somit einen verlängerten Aufenthalt der Perfusionslösung im Rektum. Bei Versuchen mit menschlichen Probanden konnte gezeigt werden, daß die Resorption wegen des verlangsamten Transports einer viskösen Lösung erhöht sein kann (LEVY et al. 1972) oder wegen der verringerten Diffusionsgeschwindigkeit der Resorption aus einer niederviskösen Lösung entspricht (HEWITT et al. 1971).

Bei den Versuchen der Versuchsgruppe 3 wurde ein möglicher Einfluß der erhöhten Viskosität des Paraffins nicht berücksichtigt. Es wurde angenommen, daß der Unterschied in der Viskosität zwischen der wässrigen Lösung und dem flüssigen Paraffin zu gering ist, um die Ergebnisse meßbar zu beeinflussen.

B KRITIK DER ERGEBNISSE

Vorbemerkungen

Biologische Membranen besitzen eine lipoide Beschaffenheit ("lipoid in character") (COLLANDER et al. 1933, DANIELLI et al. 1935, HENDLER 1971, HÖBER 1947, OVERTON 1899, SCHANKER et al. 1957). Die Diffusion durch diese Membranen ist daher weitgehend bestimmt durch die hydrophoben Eigenschaften (BRADLEY et al. 1936, COLLANDER et al. 1933, DOLUISIO et al. 1969a) und den Ionisationsgrad der angebotenen Pharmaka. Die hydrophoben Eigenschaften eines Pharmakons lassen sich durch den Verteilungskoeffizienten darstellen (LEO et al. 1971). Allerdings ist der Zusammenhang zwischen den Verteilungskoeffizienten (VK) und den Resorptionswerten von Pharmaka nur grob (COLLANDER 1947, HENDLER 1971, HOGBEN 1958, SCHANKER et al. 1957, SCHANKER 1959), denn die physikalisch-chemischen Eigenschaften der organischen Lösungsmittel, die zur Bestimmung des VK verwendet werden, und der Membranlipoide unterscheiden sich voneinander.

Die passive Resorption eines Pharmakons im Magen-Darm-Trakt ist ungefähr proportional zum transmuralen Konzentrationsgradienden des undissozierten Anteils ("pH-partition-hypothesis", GREENBERGER et al. 1969, HOGBEN et al. 1957b, JOLLOW et al. 1972, KAKEMI et al. 1967a,b,c, MILNE et al. 1958, SHORE et al. 1957, SCHANKER et al. 1957). Die Wand des Magen-Darm-Traktes besitzt wahrscheinlich aber eine geringgradige Permeabilität für Ionen (HOGREN et al. 1957a, LEVINE et al. 1961, NOGAMI et al. 1961, TURNER et al. 1971). Der Ionentransport scheint besonders bei nur in geringem Umfang resorbierten schwachen Elektrolyten eine Rolle zu spielen (KAKEMI et al. 1967a,c). Die Ionen diffundieren wahrscheinlich durch hydrophile Poren in den Membranen der Darmwand (BUZARD et al. 1961, LAUTERBACH et al. 1973, WILSON et al. 1955).

VERSUCHSGRUPPE 1

Der Korrelationsgrad zwischen dem Ausmaß der Resorption einer Reihe von Testsubstanzen und dem Verteilungskoeffizienten (VK) dieser Testsubstanzen hängt von der Wahl des organischen Lösungsmittels ab, mit welchem der VK bestimmt wird. Zur Beurteilung des Korrelationsgrades läßt sich der SPEARMAN'sche Rangkorrelationskoeffizient r_s heranziehen. Es ergaben sich für neun Substanzen (SM, BA, PE, HB, AN, TBB, TP, PR, CP; s. auch Tab. 1), deren VK mit den drei organischen Lösungsmitteln Heptan, Oktanol und Chloroform bestimmt worden sind, folgende Koeffizienten:

	r_s
VK-Heptan	o.95o
VK-Oktanol	o.933
VK-Chloroform	o.883

Die Korrelation ist für diese Substanzen am günstigsten mit dem Verteilungskoeffizienten unter Verwendung von Heptan als Lipidphase. In den Abb. 4a-c ist die Korrelation für einige Substanzen graphisch dargestellt (Zahl und Art der Substanzen sind zwischen den drei Abb. nicht identisch!). KOIZUMI (1964b) fand die beste Korrelation zwischen der Resorption von Pharmaka im Magen und ihren VK-Werten bei Isopentenylazetat bzw. der Resorption von Pharmaka im Dünndarm und ihren VK-Werten bei Chloroform. Nach KAKEMI et al. (1965b) korrelieren Resorptionsgeschwindigkeit von Sulfonamiden im Rattenrektum mit dem VK (Isoamylazetat) dieser Substanzen. Andere Autoren fanden eine Beziehung zwischen der Resorptionsgeschwindigkeit von Pharmaka im Dünndarm (HOGBEN et al. 1958) und Colon (SCHANKER 1959) und dem Verteilungskoeffizient dieser Pharmaka in ihrer unionisierten Form (VK_u) bei Verwendung von Chloroform und

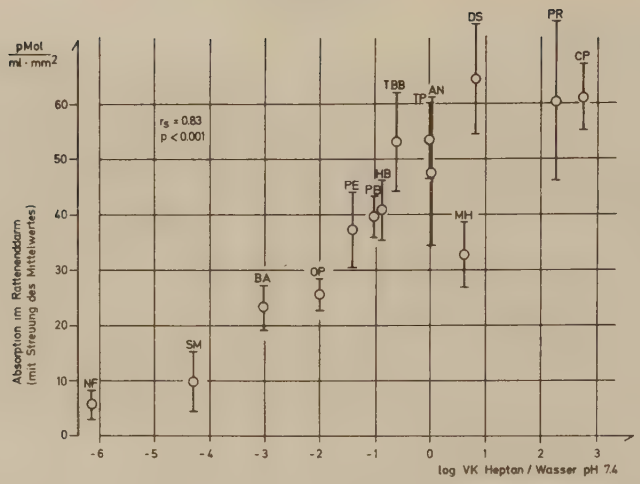


ABB. 4a: VG1, Resorption der Pharmaka, korreliert mit ihrem Verteilungskoeffizienten in Heptan bei pH 7.4 (n=14)

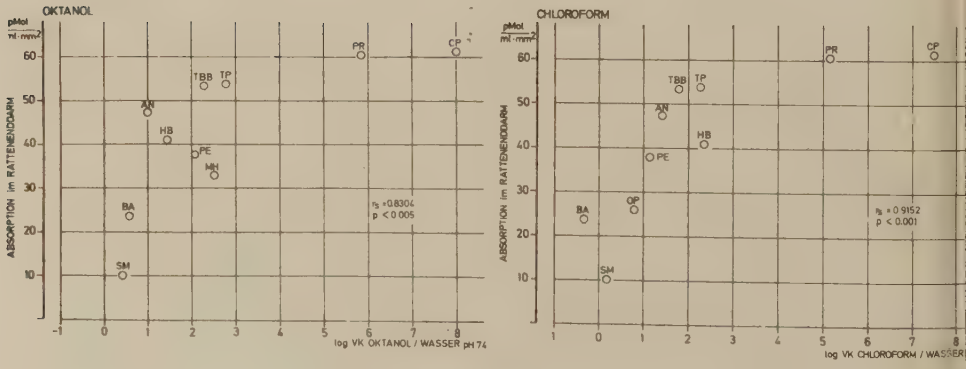


ABB.4b,c: VG1, Resorption ausgewählter Pharmaka, korreliert mit ihrem VK in Oktanol und Chloroform bei pH 7.4(n=11)

Heptan als Lipidphase.
Die Korrelation zwischen den hier bestimmten Resorptionswerten und den VK der Pharmaka ist positiv. Mit steigendem VK nimmt das Ausmaß der Resorption zu. Hierbei sind die VK der Substanzen auf pH 7.4 bezogen. Dies ist der nach der Perfusion in den Lösungen bestimmte Durchschnittswert. Für diesen pH-Wert ist die Korrelation signifikant.
Eine Beziehung zwischen dem Ausmaß der Resorption und der Bindung an Plasmaprotein (FRIEMEL 1968) bei 1o Pharmaka konnte nicht gefunden werden (Tab.8).

TAB. 8 VERGLEICH PROTEINBINDUNG (PLASMAPROTEINE, RATTE) (FRIEMEL 1968) und RESORPTIONSWERTE (VG 1)

	R	Prot.-Bind. %	
Chlorpromazin	61.o	96.5	n = 1o
Thiopental	53.7	9o.2	r_s = o.o4242
Thiobutabarbital	53.o	75.3	α > o.o5 (nicht signifik.)
Anilin	47.5	32.3	R = Resorption im Enddarm der Ratte in $\frac{pmol}{ml \cdot mm^2}$
Hexobarbital	4o.8	54.2	
Phenylbutazon	39.8	92.4	
Pentobarbital	37.3	59.4	
Methohexital	32.9	86.3	
Sulfadimethoxin	1o.o	99.7	
Nitrofurantoin	5.4	73.2	

Die Resorptionsgeschwindigkeit steigt linear zum log des VK (Heptan) im Bereich log-4 bis log o. Die Extremwerte jenseits dieses Bereichs liegen nicht mehr auf dieser Geraden. In Abb.5 verringert sich die Steigung der Kurve rechtsseitig zunehmend und könnte sich schließlich einer Abszissenparallele nähern. Mehr als ungefähr 45% eines perfundierten Pharmakons werden nicht resorbiert.

Die bei der Perfusion des Darmes mit Pharmakonlösung erreichte maximale Resorptionsgeschwindigkeit hängt von der Geschwindigkeit der Perfusion ab. Bei der von SCHANKER et al. (1958) und SCHANKER (1959) gewählten Perfusionsgeschwindigkeit wurden bei einfacher Perfusion höchstens 5o-6o%, bei HOGBEN et al. (1958) höchstens 65% resorbiert.
Man könnte annehmen, daß die Durchblutungsgröße die Resorptionsgeschwindigkeit begrenzt. Wenn die durch die Darmwand diffundierte Pharmakonmenge größer als die Transportkapazität des Blutes wäre, würde sich der transmurale Konzentrationsgradient verringern. Substanzen, die wegen starker Bindung an Plasmaproteine weniger kumulieren und diesen Gradienten wieder erhöhten könnten, müßten demnach besser resorbiert werden als Substanzen mit geringer Plasmabindung. Tab. 8 zeigt, daß gleichgut resorbierte Pharmaka verschieden hohe Bindung an Plasmaproteine zeigen. Falls die Durchblutung nicht stark vermindert ist, begrenzt offenbar die Diffusion im Lumen zur Darmwand hin die Resorptionsgeschwindigkeit (KOIZUMI et al. 1964a, LEVY et al. 1965, RIEGELMAN et al. 1958a, SCHANKER et al. 1958, WINNE et al. 1971). Bei der Präparation der Versuchstiere wurde aus diesem Grunde darauf geachtet, daß während des Versuchs die Durchblutung nicht beeinträchtigt wurde (METHODE, 4.).

Bei linearer Abhängigkeit von VK und Resorptionsgeschwindigkeit wäre zu erwarten, daß die Kurve in Abb. 5 unter einem VK-Wert von -4 auf Null absinkt. Sie nähert sich jedoch asymptotisch der Abszisse. Dies könnte dadurch erklärt werden, daß sich bei geringen Differenzen in der Konzentration der Lösung vor und nach der Perfusion andere Faktoren, die ein Verschwinden des Pharmakons aus der Perfusionslösung bewirken können, bemerkbar machen. Bei der Resorption von Barbituraten im Dünndarm der Ratte besteht eine enge Beziehung zwischen Resorption und Bin-

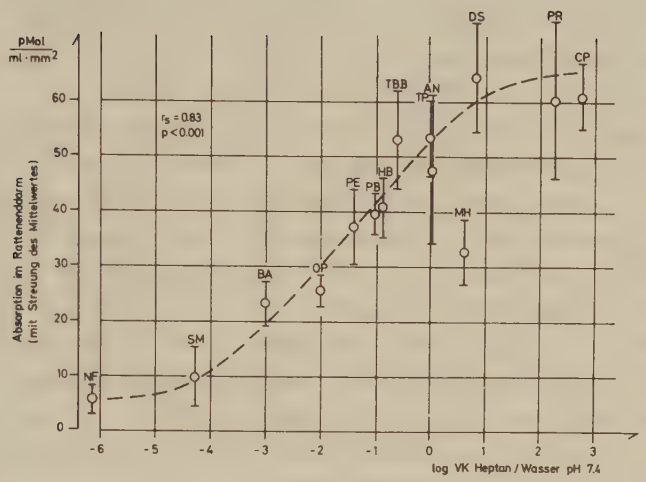


ABB. 5: Versuchsgruppe I, Resorption der Pharmaka korreliert mit ihrem VK (Heptan) bei pH 7.4; die Abkürzung der Pharmaka beziehen sich auf Tab.1 Die gestrichelte Linie gibt den hypothetischen Verlauf der Resorptionskurve wieder.

dung an die Mucosa (KAKEMI et al. 1967c, 1969a, 1969b). Setzt man eine der Plasmabindung ähnliche Mucosabindung voraus, so könnte die Konzentrationsverminderung von Nitrofurantoin (Plasmabindung 73.2%) und Sulfadimethoxin (99.7%; FRIEMEL 1968) in der Lösung nach der Perfusion auf einer Bindung an die Mucosa beruhen.

Das Verschwinden von wenig hydrophoben Substanzen wie Nitrofurantoin oder Sulfadimethoxin kann auch auf Porendiffusion zurückgeführt werden (KAKEMI et al. 1965a, 1969b). Andere Autoren fanden ebenfalls, daß der Transport durch Poren bei schlecht resorbierbaren Substanzen eine Rolle spielen kann (LAUTERBACH et al. 1973, WILSON et al. 1955).

Im Unterschied zum Jejunum ist eine Biotransformation durch körpereigene Enzyme im Colon und Rektum nicht wahrscheinlich (CURRY et al. 1971, JOLLOW et al. 1972). Eine Umwandlung von

Pharmaka im perfundierten Darm durch bakterielle Enzyme ist unter den beschriebenen Bedingungen wohl nur in sehr geringem Umfang möglich.

Die Resorptionswerte korrelieren signifikant mit dem VK (Heptan) der Testsubstanzen bei pH 7.4 (Tab. 4a und 5). KAKEMI et al. (1965a) haben im Rektum nach der steady-state-Methode einen pH-Wert von 5.4 errechnet. Die Korrelation der Resorptionswerte mit dem VK (Heptan) der Substanzen bei pH 5.4 ist jedoch geringer ($\alpha \leq 0.025$).
Vergleicht man die Resorptionswerte der Pharmaka in ihrer Rangfolge mit den Ergebnissen von drei anderen Arbeiten an anderen Darmabschnitten (Tab. 9), so ergibt sich bei den wenigen vergleichbaren Werten in allen drei Vergleichsfällen eine signifikante Übereinstimmung.
DOLUISIO et al. (1969a) haben gefunden, daß im Dünndarm der Ratte basische Elektrolyte schlechter resorbiert werden als saure. Bei der vorliegenden Arbeit konnte ein solcher Unterschied nicht gefunden werden. Ionisationsgrad und Hydrophobie sind für Basen und auch für Säuren die maßgeblichen Faktoren (HOGBEN et al. 1958, SCHANKER et al. 1958, SCHANKER 1959).

Der Resorptionsvorgang als passiver Verteilungsprozeß läßt sich auch an einem Modellversuch demonstrieren. Dabei wurden 15o cm lange Silikonschläuche 3o min. rezirkulierend mit Pharmakonlösungen (c=1oo nmol/ml) perfundiert. In Abb. 6 sind die erhaltenen Werte gegen den log VK (Heptan) bei pH 7.4 aufgetragen. Zwischen log -2 und log 2 steigt die Sorption (Aufsaugung und Speicherung im Schlauchmaterial) von Null ausgehend bis nahezu 1oo% linear zum log des VK an und biegt dann in eine Abszissenparallele ein. Der Kurvenverlauf gleicht im Prinzip dem Kurvenverlauf der Resorptionswerte vom Rektum (Abb. 5).

TAB. 9 VERGLEICH DER EIGENEN RESORPTIONSWERTE IM ENDDARM DER RATTE MIT DEN WERTEN ANDERER AUTOREN (VG 1)

	R $(\frac{pmol}{ml \cdot mm^2})$	Schanker (1959) % absorb., Colon	Schanker et al. (1958) % absorb., Dünndarm	Hogben et al.(1958) % absorb., Dünndarm
Thiopental	53.7	5o	55	67
Anilin	47.5	44	54	58
Phenylbutazon	39.8	38	65	54
Phenol	36.2	36	51	6o
Aminopyrin	27.2	21	33	48
Barbital	23.4		3o	25

n	=	5	n = 6	n	= 6
r_s	=	1.o	r_s = o.8286	r_s	= o.8286
α	=	o.ool	α = o.o25	α	= o.o25

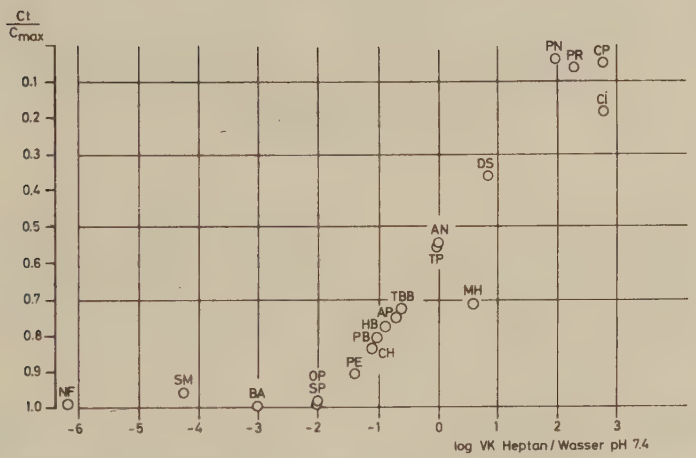


ABB. 6: Sorption der Pharmaka in den Silikonschlauch, korreliert mit ihrem VK (Heptan) bei pH 7.4.
Die Abkürzungen der Pharmaka beziehen sich auf Tab.1
C_t = Konzentration nach Perfusion
C_{max} = Konzentration vor Perfusion

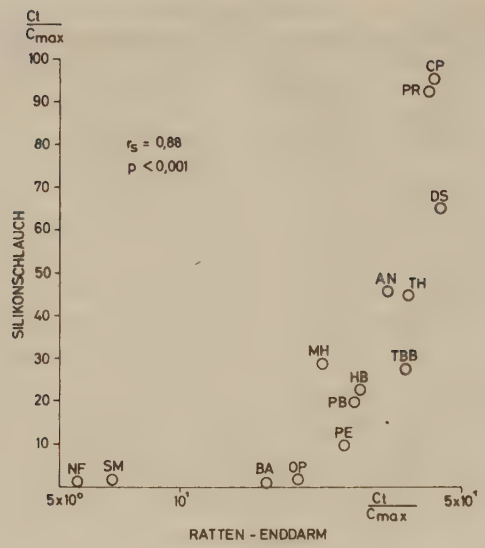


ABB.7: Korrelation zwischen der Sorption in den Silikonschlauch und der Resorption im Enddarm (VG 1).

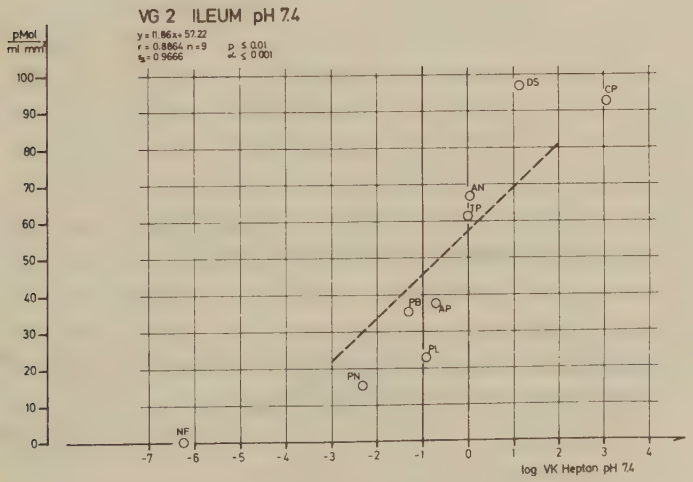
Die Abkürzungen der Pharmaka beziehen sich auf Abb.1.
c_t = Konz. nach Perfusion
$C_{max.}$ = Konz. vor Perfusion

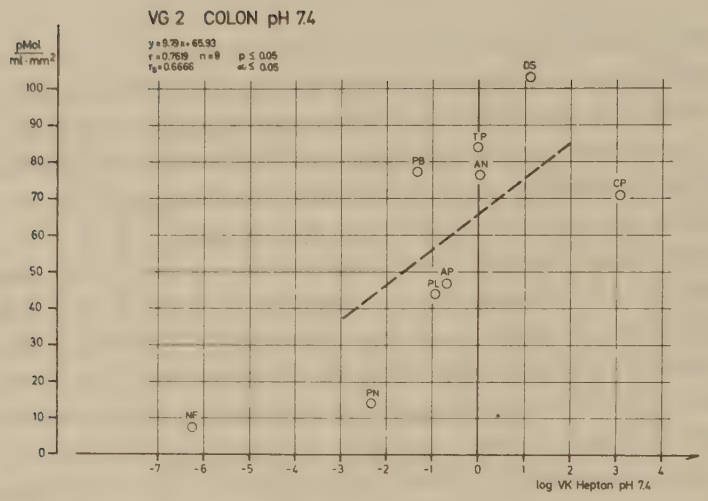
Resorption im Rattenenddarm und Sorption an den Silikonschlauch sind eng miteinander korreliert (Abb.7). Eine gute Korrelation zwischen Diffusionskonstanten an künstlichen Lipidmembranen und den von SCHANKER gefundenen Diffusionskonstanten fand auch STRICKER (197o).

VERSUCHSGRUPPE 2 (VG 2)

Eine zweite Versuchsreihe sollte quantitative Aussagen über die rektale Resorption im Vergleich mit anderen Darmabschnitten machen. Neun ausgewählte Pharmaka (fünf Basen, vier Säuren) wurden verwendet. In den Abb. 8a-c sind die Resorptionswerte gegen den VK (Heptan) bei pH 7.4 aufgetragen. Es besteht eine signifikante Korrelation zwischen Resorptionswert

und VK. Verbindet man die Punkte, so läßt sich in allen drei Darstellungen wieder eine Kurve mit sigmoidem Verlauf zugrunde legen. Der Kurvenverlauf wurde schon oben diskutiert (s.S.35). Die durchschnittlichen pH-Werte in den Perfusionslösungen nach Durchströmung der Darmsegmente betrugen für das Ileum 7.8, für das Colon 7.o, für das Rektum 7.3.
WALDRON-EDWARD et al. (1966) registrierten bei ihren Untersuchungen des pH-Milieus im Dünndarm im letzten von 9 Segmenten einen pH-Wert von 7.24. NOGAMI et al. (1964) haben im Dünndarm der Ratte pH 6.7-6.8, FORTH et al. (1974) pH 6.9 gemessen. KOIZUMI et al. (1964b) bestimmten bei Rezirkulationsversuchen einen pH-Wert von 6.5. ROBINSON et al. (1931) fanden einen nach distal zunehmenden pH-Wert, der im 3. Abschnitt des Dünndarms pH 8.o-8.2, im ersten Colonabschnitt pH 6.9-7.2 erreichte. PARSONS (1956) bestimmte im Ileum und Colon bei Rezirkulationsversuchen einen konstanten pH-Wert von 7.5, SCHANKER (1959) bei ähnlichen Versuchen im Colon pH 6.8-7.o.





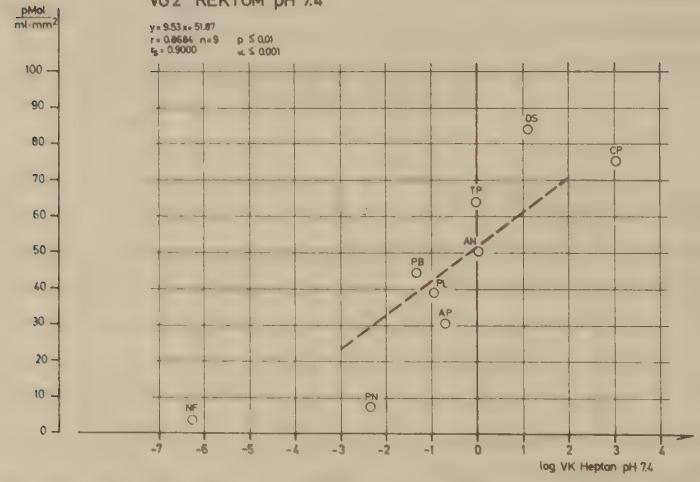


ABB.8a-c: Resorption von Pharmaka, korreliert mit dem VK (Heptan) bei pH 7.4, Versuchsgruppe 2.
a: Ileum, b: Colon, c: Enddarm
Die gestrichelte Linie gibt die Lage der Regressionsgeraden an.
r = Korrelationskoeffizient
p = Irrtumswahrscheinlichkeit für r
r_s = SPEARMAN-Rangkorrelationskoeffizient
α = Irrtumswahrscheinlichkeit für r_s
Die Abkürzungen der Pharmaka beziehen sich auf Tab.1.

Die Untersuchungen der Arbeitsgruppe um BRODIE (1964) zeigten, daß der Ionisationsgrad einiger saurer Elektrolyte bei dem im Darmlumen bestimmten pH-Wert zu hoch ist, als daß sie in diesem Ausmaß durch einfache Diffusion die Lipidmembran passieren könnten. HOGBEN et al. (1958) nahmen an, daß das minimale Grenzverhältnis zwischen unionisierter und ionisierter Substanz, bei welchem noch eine schnelle Resorption gewährleistet ist, bei 1:2oo liege. Es wurde ein "eigentlicher" (virtual) pH-Wert an der Darmoberfläche angenommen und im Dünndarm mit pH 5.3 (HOGBEN et al. 1957a, NOGAMI et al. 1961), im Colon mit pH 6.5 (SCHANKER 1959) berechnet. BLAIR et al. (1974) berechneten im Jejunum sogar nur pH3-4.
In der folgenden Übersicht ist das Verhältnis von unionisierter zu ionisierter Substanz für die am stärksten ionisierten Pharmaka der in VG 2 gemachten Versuche aufgeführt. Der in der Perfusionslösung nach der Perfusion gemessene durchschnittliche pH-Wert ($p\bar{H}$) ist zugrundegelegt. $\bar{R}$ ist der durchschnittliche Wert der Resorption (Tab. 5).

	für Säuren (Phenylbutazon)	$\bar{R}$	für Laugen (Desipramin)	$\bar{R}$	$\overline{pH}$
im Ileum	1:2000	35.9	1:250	96.9	7.8
im Colon	1: 320	77.4	1:1600	103.8	7.0
im Rektum	1: 630	44.5	1:800	84.2	7.3

Es zeigt sich, daß auch stärker ionisierte Substanzen noch gut resorbiert werden können (Desipramin; s. Ergebnisse).
In Abb. 9a und b sind die von uns gefundenen Resorptionswerte mit den VK (Heptan) der Pharmaka bei den "eigentlichen" pH-Werten korreliert. Im Ileum ist die Korrelation nicht signifikant, im Colon besteht eine nur noch grobe Korrelation. Die Ergebnisse der Arbeitsgruppe um SCHANKER lassen sich nicht bestätigen.

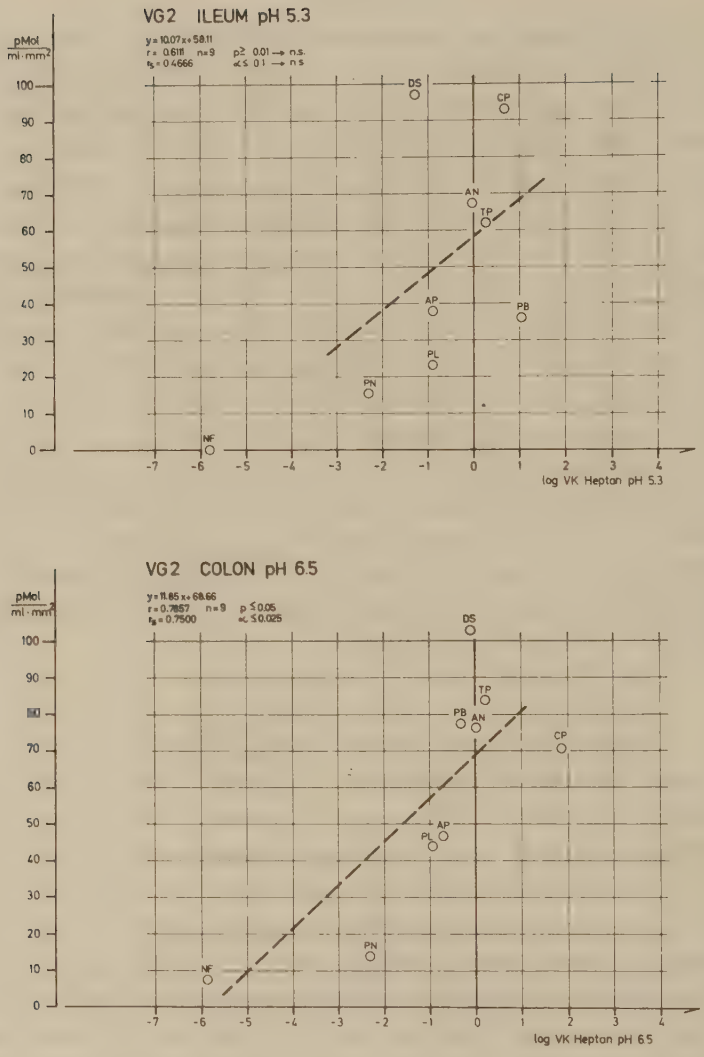


ABB. 9a+b Koordinatensystem, Korrelation zwischen Resorption und VK der Substanzen in Heptan; a) Werte im Ileum, verglichen mit dem VK bei pH 5.3, b) Colon (pH 6.5); die gestrichelte Linie gibt die Lage der Regressionsgeraden an.
Die Abkürzungen der Pharmaka beziehen sich auf Tab.1.

Trotz der Ähnlichkeit des Kurvenverlaufs (Abb.5,8a-c) werden die verschiedenen Pharmaka in den einzelnen Darmabschnitten unterschiedlich stark resorbiert. In Abb. lo sind die Resorptionswerte von 7 Pharmaka in den drei Darmabschnitten aufgetragen. Zur besseren Interpretation der Ergebnisse ist in der oberen Spalte der relative Verteilungskoeffizient (rVK) aufgetragen. Den rVK erhält man, wenn man den Verteilungskoeffizienten (VK) einer Substanz bei dem im Ileum (pH 7.8) oder Colon (pH 7.o) herrschenden pH-Milieu auf den VK dieser Substanz (=1.o) bei dem im Rektum herrschenden pH-Milieu (7.4) bezieht. Vergleicht man die Resorptionswerte von Substanzen mit gleich grossem rVK (Anilin, Aminopyrin, Phenazon), so unterscheiden sich die Werte von Ileum und Colon kaum.Dagegen ist die Resorption aus dem Rektum signifikant niedriger. Bei grossem rVK für Chlorpromazin im Ileum ist die Resorption dort deutlich höher. Ist der rVK im Colon erhöht (Thiopental, Phenylbutazon, Nitrofurantoin),so kommt es dort zu einer signifikant stärkeren Resorption.

Die Abhängigkeit des Ausmaßes der Resorption vom pH-Milieu des untersuchten Darmabschnittes wurde von mehreren Autoren festgestellt. Saure Elektrolyten werden wegen des geringeren Ionisationsgrades in saurem Milieu besser resorbiert als im alkalischen Milieu. Bei basischen Elektrolyten verhält es sich umgekehrt (BRADLEY et al. 1936, DOLUISIO et al. 1969a, HOGBEN et al. 1958, SCHANKER et al. 1957, SCHANKER 1959). KAKEMI et al.(1969b) erklärten diese Unterschiede in der Resorption allerdings mit dem pH-abhängig wechselnden Ausmaß der Mucosabindung.

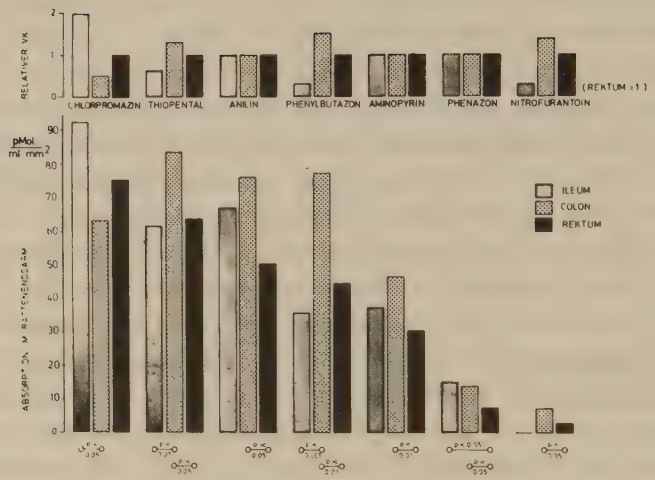


ABB. 10 Resorptionswerte in Versuchsgruppe 1 (untere Säulenreihe).
Die obere Säulenreihe zeigt den relativen Verteilungskoeffizienten (Heptan) der Pharmaka in dem im jeweiligen Darmabschnitt herrschenden pH-Milieu, bezogen auf den VK im pH-Milieu des Enddarms (=1), an. Die ganz unten mit der Irrtumswahrscheinlichkeit angegebenen signifikanten Unterschiede wurden varianzanalytisch mit anschließendem DUNCAN-Test ermittelt. Nur bei Nitrofurantoin wurde der nichtparametrische U-Test angewendet (WILCOXON).

VERSUCHSGRUPPE 3 (VG 3)

In Abb. 11 sind die Resorptionswerte aus Versuchsgruppe 3 gegen den log der VK (Heptan) der Substanzen bei pH 7.4 aufgetragen. Es zeigt sich eine negative signifikante Korrelation zwischen beiden Variablen: die Pharmaka mit dem geringsten VK verschwinden am raschesten aus der Paraffinlösung.

Die Perfusion mit Lösungen in flüssigem Paraffin fand unter den gleichen Bedingungen statt wie die Perfusion mit wässrigen Lösungen. In Abb. 12 sind die Resorptionswerte derselben Sub-

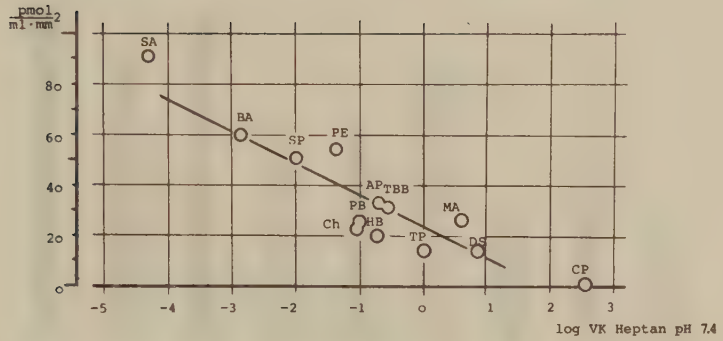


ABB. 11: Resorption von Pharmaka im Enddarm der Ratte, korreliert mit dem log VK (Heptan) bei pH 7.4, Versuchsgruppe 3.
Die Abkürzungen beziehen sich auf TAB.1.
Der Schrägstrich zeigt die Lage der Regressionsgeraden; $r = -o.9o77$, $p < o.ool$.
Die Zahlenwerte zu dieser Abb. finden sich in TAB.6.

stanzen aus polarer (wässriger) und aus unpolarer (Paraffin-) Lösung vergleichbar nebeneinander aufgetragen. Die Substanzen werden entweder gut aus polarer Lösung und schlecht aus unpolarer Lösung resorbiert, oder umgekehrt mäßig aus ihrer polaren Lösung und gut aus ihrer unpolaren Lösung resorbiert. In Abb. 13 sind die Resorptionswerte der Substanzen aus polarer Lösung (H) gegen die Werte aus unpolarer Lösung (L) aufgetragen. Es besteht eine signifikante Korrelation.

Besonders gut zeigt sich die Gegenläufigkeit der gegen den log VK (Heptan, pH 7.4) aufgetragenen Regressionsgeraden der Resorptionswerte aus wässriger Lösung und Lösung in flüssigem Paraffin in Abb. 14, wo sie in demselben Koordinatensystem eingetragen sind.

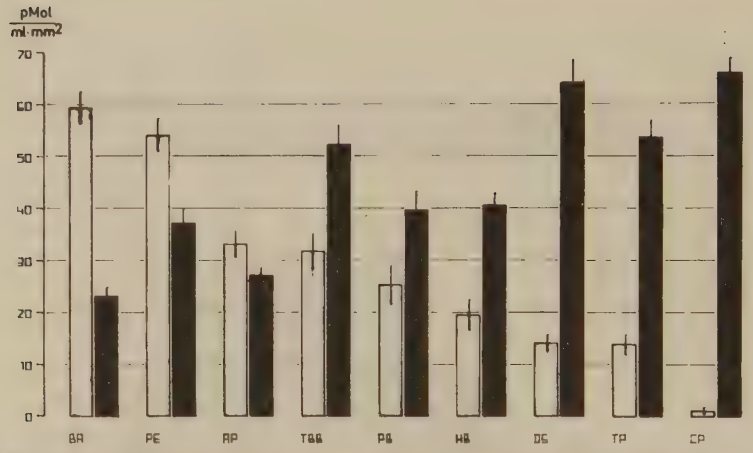


ABB.12: Säulendiagramm; Resorptionswerte einiger Pharmaka aus VG 1 (dunkle Säulen), verglichen mit den Werten einiger Pharmaka aus VG 3 (helle Säulen), mit Standardabweichung des Mittelwertes.

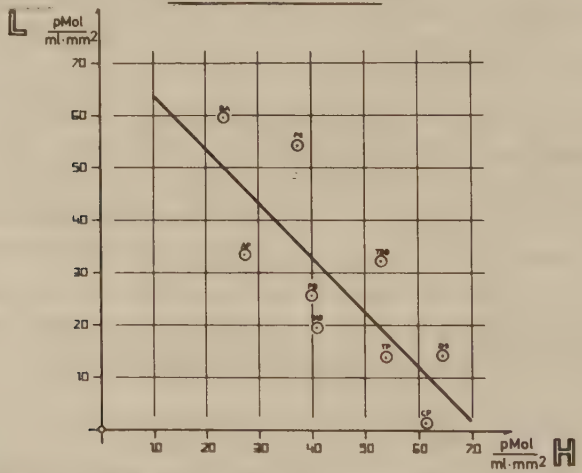


ABB.13: Resorptionswerte einiger Pharmaka (s.Tb.1) aus Versuchsgruppe 1 (Resorption aus wässrigen Lösungen,H) korreliert mit ihren Resorptionswerten aus Versuchsgruppe 3 (Resorption aus Lösung in flüssigem Paraffin, L); die dicke Linie gibt die Lage der Regressionsgeraden an ($r=-0.7813$, $p<0.05$)

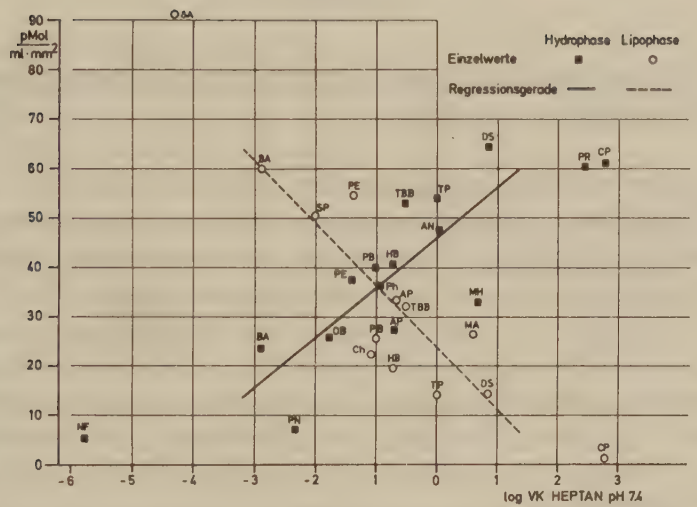


ABB.14: Korrelation aller Werte aus den Versuchsgruppen 1 (Resorption aus wässriger Lösung, "Hydrophase") und 3 (Resorption aus Lösung in flüssigem Paraffin, "Lipophase") mit dem VK (Heptan, pH 7.4). Abk. der Pharmaka s. Tab. 1.

C EINFLUSS DER OBERFLÄCHENBESCHAFFENHEIT DER DARMSCHLEIMHAUT AUF DIE RESORPTION

Die gegensätzlichen Ergebnisse der Resorption aus wässrigen und hydrophoben Lösungen können auf den jeweils verschiedenen besonderen morphologischen und physikalischen Gegebenheiten an der Schleimhautoberfläche des Enddarms beruhen.
Die Schleimhaut des Rattenenddarms ist mit einer großen Zahl von Becherzellen (Thekazellen) besetzt, welche einen hydrophilen mucopolysaccharidhaltigen Schleim absondern. Dieser Schleim bedeckt die Oberfläche und bildet als supraepitheliale Schicht eine hydrophile Phase vor den "hydrophoben Lamellen der Membran" (HENDLER 1971).
Das flüssige Paraffin hatte während der Perfusion anscheinend keinen direkten Kontakt mit der Schleimhautoberfläche. Bei der Präparation des Darms nach der Perfusion konnte makroskopisch jedenfalls in keinem Falle eine Benetzung der Schleimhautoberfläche festgestellt werden. Außerdem wurde bei der Bestimmung des Pharmakongehalts im Darmgewebe (s. Methode,8.) nur bei ganz wenigen Pharmaka eine im meßbaren Bereich liegende Konzentration bestimmt (s. Ergebnisse). Bei direktem Kontakt des flüssigen Paraffins mit der Darmwand wären bei der Präparation (s. Methode,6.) Reste der Pharmakonlösung in flüssigem Paraffin am Darmgewebe zurückgeblieben und hätten so dort zu meßbaren Konzentrationen geführt.
Die wässrige Perfusionslösung steht über die hydrophile supraepitheliale Schleimhaut direkt mit der äußeren hydrophilen Lamelle der Basalmembran in Verbindung. Es besteht also ein hydrophiles Kontinuum von der Perfusionslösung bis zur Basalmembran. Dieses Kontinuum samt dem hydrophoben Anteil der Membran entspricht einem Zwei-Phasen-Modell, in welchem sich die gelösten Substanzen gemäß ihrer eigenen Hydrophobie verteilen.

Die Pharmakonlösung im unpolaren flüssigen Paraffin grenzt dagegen bei der Perfusion als hydrophobe Phase an die hydrophile Phase der supraepithelialen Schleimschicht. Die Permeation folgt daher der Verteilung in einem Drei-Phasen-Modell (Phase 1: Paraffinlösung, hydrophob; Phase 2: supraepithelialer Schleim und Proteinschicht der Basalmembran, hydrophil; Phase 3: Lipoidschicht der Basalmembran, hydrophob). So kommt es zuerst zu einer Verteilung der in flüssigem Paraffin gelösten Substanzen zwischen Paraffin und Mucus gemäß ihrer eigenen Hydrophobie. Stark hydrophobe Substanzen (Chlorpromazin) werden dabei die hydrophobe Phase (Paraffin) nur in sehr geringem Umfang verlassen. Erst die in der supraepithelialen Schicht (Mucus) gelöste Substanz kann dann resorbiert werden.
Abb. 15 illustriert die theoretische Verteilung für zwei Pharmaka A (Verteilungskoeffizient, VK = 1o) und B (VK=o.1). Beide liegen zu Beginn des Versuchs in gleicher Konzentration (1o) in der hydrophoben Phase (Paraffin) vor. Für beide tritt dann ein Verteilungsgleichgewicht zwischen der hydrophoben Phase (Paraffin) und der hydrophilen Phase (Mucus) auf. Nach Einstellung des Gleichgewichts ist die Konzentration des nicht ionisierten Teils im hydrophilen Mucus für Pharmakon B einhundert Mal größer als für Pharmakon A. Der für die Diffusionsgeschwindigkeit - und damit für das Ausmaß der Resorption - wichtige Konzentrationsgradient durch die Membran ist für B einhundert Mal größer als für A, wenn das Gewebe kein Pharmakon enthält.
In einer wässrigen Phase, in der die Pharmaka A und B in gleicher Konzentration (1o) gelöst sind, ist der Konzentrationsgradient durch die Membran für beide gleich groß. Verglichen mit dem Gradienten durch die Membran bei dem Drei-Phasen-Modell mit flüssigem Paraffin ist er in diesem Fall für A zehn Mal größer und für B zehn Mal kleiner.

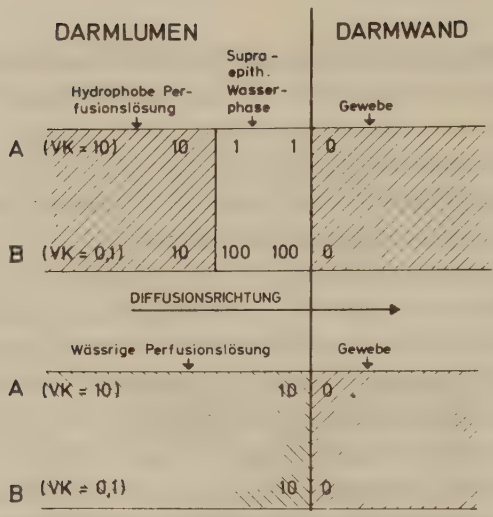


ABB.15: Schematisches Schnittbild durch den Darm mit der Schichtung der Flüssigkeit supraepithelial bei VG 1 (unten) und VG 3 (oben). Die Zahlen geben die Konzentrationsverhältnisse angenommener Pharmaka wieder (Erklärung s. Text).

Liegen in der Perfusionslösung oberflächenaktive Substanzen mit niedriger Dielektrizitätskonstante, also von hydrophobem Charakter vor, so ist auch hier die Resorption von hydrophoben Pharmaka verringert (KAKEMI et al. 1965b, LEVINE 1961, RIEGELMAN et al. 1958b,c, SHANGRAW et al. 1971). KAKEMI et al. (1965c) fanden, daß bei Zusatz einer nicht-ionisierten oberflächenaktiven Substanz das Ausmaß der Resorption für hydrophobe Sulfonamide reduziert wurde. Der Umfang der Reduktion hing von der Konzentration dieser Substanzen und der Hydrophobie der Sulfonamide ab.

Abb. 16 zeigt die Verteilung einer Testsubstanz zwischen dem Micellenkompartiment (M, hydrophob), dem wässrigen Kompartiment (F, hydrophil) und der Lipidmembran des Darms (L, hydrophob) bei der Perfusion in Anwesenheit einer oberflächenaktiven

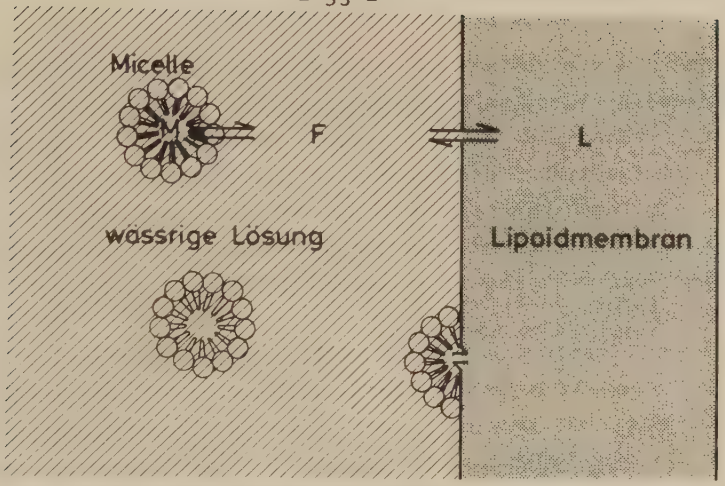


ABB.16: Resorption aus Lösungen bei Zusatz von oberflächenaktiven Substanzen mit Micellenbildung (Schnittbild) M = Micellenkompartiment, F=Kompartiment der freien wässrigen Lösung, L = Kompartiment der hydrophoben Lipoidmembran. (nach KAKEMI et al. 1965c)

Substanz. In Gegenwart von nicht-ionisierten oberflächenaktiven Substanzen können Pharmaka auf zwei Wegen resorbiert werden: als freies Pharmakon (obere Bildhälfte) oder als Pharmakon in Micellen durch Anlagerung von Micellen an die Darmmembran (untere Bildhälfte).

Das Modell von KAKEMI et al. (1965c,1966; Abb.16), welches die morphologischen Verhältnisse bei der Resorption im Darm wiedergeben soll, stimmt im Prinzip mit unserem Modell (Abb.15) überein. Bei der Verwendung von flüssigem Paraffin als hydrophobem Lösungsmittel gibt es den von KAKEMI beschriebenen direkten Übergang von einer hydrophoben Phase (M) in die andere (L) nicht. Ein stark hydrophobes Pharmakon wird deshalb fast überhaupt nicht resorbiert werden können, weil es die Paraffinlösung nicht verläßt. Mit steigendem Verteilungskoeffizienten fällt die "Resorptionskurve" (Abb.11) auf Null ab.

Substanzen von stärker hydrophilem Charakter als Barbital konnten im flüssigen Paraffin nicht in ausreichender Konzentration in Lösung gebracht werden, so daß über den weiteren Verlauf des linken Kurventeils in Abb.11 nur spekuliert werden kann. Auch hier wird es, wie bei den wässrigen Lösungen, wegen der begrenzten Diffusionsgeschwindigkeit der Substanzen in der Perfusionslösung zu keiner weiteren Steigerung der Resorption kommen.
Eine quantitativ ins Gewicht fallende Kumulation eines hydrophilen Pharmakons in der supraepithelialen Schleimschicht tritt offensichtlich nicht auf. Diese Schicht ist mengenmäßig sehr klein und müßte schon bei der der Sammelperiode vorausgehenden Perfusion mit Pharmakonlösung gesättigt werden. Danach dürfte die Konzentration in der Paraffinlösung nur noch wenig abnehmen (Abb.17). Abb.11 zeigt, daß auch während der Sammelperiode große Mengen hydrophiler Pharmaka die Paraffinlösung verließen. Auch HÜTTL et al. (1976) fanden, daß die hydrophile Salicylsäure unter den hier beschriebenen Versuchsbedingungen aus Paraffinlösungen über längere Zeit gleichmäßig hoch resorbiert wurde. Dies weist auf eine der Verschwindensrate entsprechende Resorptionsgröße hin.

Die besonders gute Resorption hydrophiler Pharmaka aus hydrophoben Suppositorienmassen wird von vielen Autoren beschrieben (z. B. HASSLER et al. 1953, LOWENTHAL et al. 1965, PARROTT 1971, PENNATI et al. 1958) und wird in der Galenik berücksichtigt.

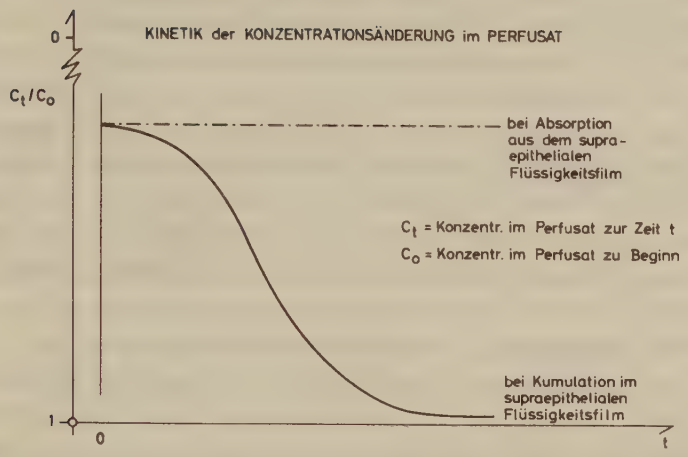


ABB. 17: Kinetik der Verschwindensrate eines Pharmakons aus der Lösung in Paraffin bei Kumulation in der supra-epithel. Schleimschicht und bei Resorption. O gibt den Zeitpunkt des ersten Austritts der Perfusionslösung aus dem Darm an.

In verschiedenen Versuchsreihen wurde die Resorption von Pharmaka im Enddarm der Ratte aus wässrigen Lösungen und aus Lösungen in flüssigem Paraffin bestimmt. Dazu wurden Pharmaka mit unterschiedlichen physikalisch-chemischen Eigenschaften verwendet. Der Enddarm wurde in vivo durchströmt. Die resorbierte Menge des Pharmakons wurde aus der Konzentrationsdifferenz vor und nach der Perfusion gemessen und auf die Größe der resorbierenden Darmoberfläche bezogen. Der pH-Wert der wässrigen Perfusionslösungen wurde nach der Perfusion bestimmt. Bei einigen Versuchsreihen wurden simultan Rektum, Colon und Ileum unter gleichen Bedingungen perfundiert.
Werden in isotonem Phosphatpuffer (pH 7.2) gelöste Pharmaka perfundiert, so findet sich eine positive Korrelation zwischen dem dek. Logarithmus der Verteilungskoeffizienten (VK) der Pharmaka (Heptan/Wasser), bei dem im Enddarm herrschenden pH-Milieu, und den Resorptionswerten. Die Aufnahme gut resorbierbarer Pharmaka durch den Darm ist möglicherweise durch die intraluminale Diffusion begrenzt. Hydrophile Substanzen werden wahrscheinlich in geringem Umfang durch Poren aufgenommen.
Die Resorptionswerte der Pharmaka in Colon und Ileum korrelieren auch mit dem log des VK (Heptan) dieser Pharmaka bei dem in diesen Darmabschnitten herrschenden pH-Milieu. Insgesamt resorbieren aber Colon- und Ileumepithel stärker als das Rektumepithel.
Die Resorptionswerte von in flüssigem Paraffin gelösten Pharmaka sind dagegen negativ mit dem log des VK (Heptan) dieser Pharmaka bei pH 7.4 korreliert. Dieses Ergebnis wird mit einem "3-Phasen-Modell" erklärt. Der Weg des Pharmakons geht hierbei von der hydrophoben Lösungsmittel-Phase über eine hydrophile Phase - bestehend aus dem Mucus der Becherzellen und dem hydrophilen Membrananteil - zu der wiederum hydrophoben Phase der Basalmembran.

1 APPIAH, A.K.

Eignung verschiedener Verteilungsmodelle zur Beurteilung der Permeabilität biologischer Membranen für Arzneimittel

Inaugural-Dissertation München (1971)

2 BARR, W., RIEGELMAN , S.

Intestinal Drug Absorption and Metabolism I: Comparism of Methods and Models to Study Physiological Factors of in vitro and in vivo Intestinal Absorption

J. Pharm. Sci. 59, 154-163 (197o)

3 BAUR, E.W.

The Structure-activity Relationship of Tricyclic Amines

J. Pharmacol. exp. Therap. 177, 219-226 (1971)

4 BECKETT, A.H., KOUROUNAKIS,P., VAUGHAN D.P., MITCHARD, M.

The Absorption, Blood Concentrations and Excretion of Pentazocine after Oral, Intramuscular or Rectal Administration to Man.

J. Pharm. Pharmacol. 22, 169S-174S (197o)

5 BLAIR, J.A., JOHNSON, I.T., MATTY, A.J.

Absorption of Folic Acid by Everted Segments of Rat Jejunum

J. Physiol. 236, 653-661 (1974)

6 BOSSE, J., WASSERMANN, O.

Über eine Adsorption von Histamin an Glas

Med. Pharmacol. Exp. 16, 459-464 (1967)

7 BRADLEY, W.B., SCHNEDORF J.G., IVY, A.C.

The Rate of Absorption of Salicylates and the Effect of Certain Compounds on the Rate of Absorption of Acetylsalicylic Acid from the Stomach and Intestine

Am. J. Digest.Dis. 3, 415-419 (1936)

8 BRATTON, A.C., MARSHALL, E.K.

A New Coupling Component for Sulfanilamid Determination

J. biol. Chem. 128, 537-55o (1939)

9 BRODIE, B.B., AXELROD, J., SOBERMANN, R., LEVY, B.B.
The Estimation of Antipyrine in Biological Materials
J. Biol. Chem. 179, 25-29 (1949)

10 BRODIE, B.B., MARK, L.C., PAPPER, E.M., LIEF, P.A., BERNSTEIN, E., ROVENSTEIN, E.A.
The Fate of Thiopental in Man and a Method for its Estimation in Biological Material
J. Pharmacol. exp. Therap. 98, 85-96 (1950 a)

11 BRODIE, B.B., AXELROD, J.
The Fate of Aminopyrine in Man and Methods for the Estimation of Aminopyrine and its Metabolites in Biological Material
J. Pharmacol. exp. Therap. 99, 171-184 (1950 b)

12 BRODIE, B.B., HOGBEN, C.A.M.
Some Physico-chemical Factors in Drug Action
J. Pharm. Pharmacol. 9, 345-380 (1957)

13 BRODIE, B.B., KURZ, H., SCHANKER, L.S.
The Importance of Dissociation Constant and Lipid-Solubility in Influencing the Passage of Drugs into the Cerebrospinal Fluid
J. Pharm. 130, 20-25 (1960)

14 BRODIE, B.B.
Physico-chemical Factors in Drug Absorption
aus BINNS, T.B.: Absorption and Distribution of Drugs E.&S. Livingstone Ltd. Edinburgh & London, 16-48 (1964)

15 BURNS, J.J., ROSE, R.K., CHENKIN, Th., GOLDMAN, A., SCHUBERT, A., BRODIE, B.B.
The Physiological Disposition of Phenylbutazone (BUTAZOLIDIN) in Man and a Method for its Estimation in Biological Material
J. Pharmacol. exp. Therap. 109, 346-357 (1953)

16 BUSH, M.T., BARRY, G., HUME, A.

Ultra-short-acting Barbiturates as Oral Hypnotic Agents in Man

Clin. Pharmacol. Therap. 7, 373-378 (1966)

17 BUZARD, J.A., CONKLIN, J.D., O'KEEFE, E., PAUL, M.F.

Studies on the Absorption, Distribution and Elimination of Nitrofurantoin in the Rat

J. Pharmacol. exp. Therap. 131, 38-43 (1961)

18 COLLANDER, R.

On "Lipoid Solubility".

Acta physiol. Scand. 20, 363-381 (1947)

19 COLLANDER, R., BÄRLUND, H.

Permeabilitätsstudien an Chara ceratophylla II. Die Permeabilität für Nichtelektrolyte

Acta Fenn. Bot. 11, 1-114 (1933)

20 COOPERSTEIN, I.L,, BROCKMAN , S.K.

The Electrical Potential Difference Generated by the Large Intestine: its Relation to Electrolyte and Water Transfer

J. clin. Invest. 38, 435-442 (1959)

• 21 CURRY, S.H., D'MELLO, A., MOULD, G.P.

Destruction of Chlorpromazine during Absorption in the Rat in vivo and in vitro

Brit. J. Pharmac. 42, 403-411 (1971)

22 DANIELLI, J.F., DAWSON, A.

A Contribution to the Theory of Permeability of Thin Films

J. Cellular Comp. Physiol. 5, 495-508 (1935)

23 DAVISON, C., GUY, J.L., LEVITT, M., SMITH, P.K.
The Distribution of Certain Non-narcotic Analgetic Agents in the CNS of Several Species
J. Pharmacol. exp. Therap. 134, 176-183 (1961)

24 DAYTON, P.G., BERGER, L., YÜ, T.F., SICAM, L.E., LANDRAU, M.A., GUTMANN, A.B., BURNS, J.J.
Relationship between pKa and Renal Exretion of Various Phenylbutazone Analogues.
Fed. Proc. 18, 382 (1959)

25 DIEPGEN, P.
Das Analzäpfchen in der Geschichte der Therapie
Thieme-Verlag, Stuttgart, (1953)

26 DOLUISIO, J.T., BILLUPS, N.F., DITTERT, L.W., SUGITA, E.T., SWINTOSKY, J.V.
Drug Absorption I: An in situ Rat Gut Technique Yielding Realistic Absorption Rates
J. Pharm. Sci. 58, 1196-1200 (1969 a)

27 DOLUISIO, J.T., TAN, G.H., BILLUPS, N.F., DIAMOND, L.
Drug Absorption II: Effect of Fasting on Intestinal Drug Absorption
J. Pharm. Sci. 58, 1200-1202 (1969 b)

28 FOLIN, O., DENIS, W.
On Phosphotungstic-phosphomolybdic Compounds as Color Reagents
J. biol. Chem. 12, 239-243 (1912)

29 FOLIN, O., CIOCALTEU
On Tyrosine and Tryptophane Determinations in Proteins
J. biol. Chem. 73, 627-650 (1927)

30 FORTH, W., RUMMEL, W.

(unpubl. data from FORTH, W. and LICHTENBERG, H.)

Absorption of Heavy Metals

International Enzyclopedia of Pharmacology,Band 39 B, Vol. II, 599-746 (1975)

31 FRIEMEL, G.

Die Bindung von Arzneimitteln an die Plasmaproteine verschiedener Tierarten

Inaugural-Dissertation, München (1968)

32 GANONG, W.F.

Review of Medical Physiology

Lange Medical Publ., Los Altos, Calif. 7th edit. (1975) Section V, Gastrointestinal Function

33 GOLDBAUM, L.R.

An Ultraviolet Spectrophotometric Procedure for the Determination of Barbiturates

J. Pharmacol. exp. Therap. 94, 68-75 (1948)

34 GOLDSCHMIDT, S.

On the Mechanism of Absorption from the Intestine

Physiol. Review 1, 421-453 (1921)

35 GREEN, A.L.

Ionisation Constants and Water Solubilities of Some Aminoalkylphenothiazine Tranquillizers and Related Compounds

J. Pharmacol. exp. Therap. 19, 10-16 (1967)

36 GREENBERGER, N.J., MACDERMOTT, R.P., MARTIN, J.F., DUTTA,S.

Intestinal Absorption of Six Tritium-labelled Digitalis Glycosides in Rats and Guinea Pigs

J. Pharmacol. exp. Therap. 167, 265-273 (1969)

37 HASSLER, W.H., SPERANDIO, G.J.
The Formulation of a Water-soluble Suppository Base
J. Amer. Pharm. Ass. Pract. Ed. 14,26-27,54 (1953)

38 HENDLER, R.W.
Biological Membrane Ultrastructure
Physiol. Reviews 51, 66-97 (1971)

39 HEWITT, R.R., LEVY, G.
Effect of Viscosity on Thiamine and Riboflavine Absorption in Man
J. Pharm. Sci. 60, 784-786 (1971)

40 HIGUCHI, T., LACH, J.L.
Study of Possible Complex Formation Between Macromolecules and Certain Pharmaceuticals
J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed. 43, 465-470 (1954)

41 HÖBER, R.
Physikal. Chemie d. Zellen & Gewebe, Kap. 10
Stämpfli Verlag, Bern (1947)

42 HOGBEN, C.A.M., SCHANKER, L.S., BRODIE, B.B.
Mechanism of Intestinal Absorption of Drugs
Fed. Proc. 16, 307-308 (1957 a)

43 HOGBEN, C.A.M., SCHANKER, L.S., TOCCO, D.J.,BRODIE, B.B.
Absorption of Drugs from the Stomach.II. the Human
J. Pharmacol. exp. Therap. 120, 540-545 (1957 b)

44 HOGBEN, C.A.M., TOCCO,D.,BRODIE, B.B., SCHANKER, L.S.
On the Mechanism of Intestinal Absorption of Drugs
J. Pharmacol. exp. Therap. 125, 275-282 (1958)

45 HOGBEN, C.A.M.

The First Common Pathway

Fed. Proc. 19, 864-869 (1960)

46 HÜTTL, V., KURZ, H.

Persönl. Mitteil. (1976)

47 IRVIN, J.L., IRVIN, E.M.

Apparent Dissociation Exponents of Quinine, Pamaquine and Quinonylpiperidylcarbinol; Application of an Extended pH Scale.

J. biol. Chem. 174, 577-588 (1950)

48 JOLLOW, D.J., BRODIE, B.B.

Mechanism of Drug Absorption and of Drug Solution

Pharmacology 8, 21-32 (1972)

49 JOSEPHSON, E.S., UDENFRIEND, S., BRODIE, B.B.

The Estimation of Basic Organic Compounds in Biological Material.

J. biol. Chem. 168, 341-344 (1947)

50 KAKEMI, K., ARITA, T., MURANISHI, S.

Absorption and Exretion of Drugs, XXV.
On the Mechanism of Rectal Absorption of Sulfonamides

Chem. Pharm. Bull. 13, 861-869 (1965 a)

51 KAKEMI, K., ARITA, T., MURANISHI, S.

Absorption and Excretion of Drugs. XXVI.
Effect of Water-soluble Bases on Rectal Absorption of Sulfonamides

Chem. Pharm. Bull. 13, 969-975 (1965 b)

52 KAKEMI, K., ARITA, T.,MURANISHI, S.

Absorption and Excretion of Drugs. XXVII.
Effect of Nonionic Surface-active Agents on Rectal Absorption of Sulfonamides

Chem. Pharm. Bull. 13, 976-985 (1965 c)

53 KAKEMI, K., ARITA, T., MURANISHI, S. MATSUI, H.

Absorption and Excretion of Drugs. XXVIII. Rectal Absorption of Sulfonamides from Oily Solutions.

Yakugaku Zasshi, 86, 278-282 (1966)
aus: Chem. Abstracts 65, 2842b (1966)

54 KAKEMI, K., ARITA, T., HORI, R., KONISHI, R.

Absorption and Excretion of Drugs. XXX. Absorption of Barbituric Acid Derivatives from the Rat Stomach

Chem. Pharm. Bull, 15, 1534-1539 (1967 a)

55 KAKEMI, K., ARITA, T., HORI, R., KONISHI, R.

Absorption and Excretion of Drugs, XXXI. On the Relationship between Partition Coefficients & Chemical Structures of Barbituric Acid Derivatives

Chem. Pharm. Bull, 15, 1705-1712 (1967 b)

56 KAKEMI, K., ARITA, T., HORI, R., KONISHI, R.

Absorption and Excretion of Drugs, XXXII. Absorption of Barbituric Acid Derivatives from Rat Small Intestine.

Chem. Pharm. Bull. 15, 1883-1887 (1967 c)

57 KAKEMI, K., ARITA, T., HORI, R., KONISHI, R., NISHIMURA, K.

Absorption and Excretion of Drugs. XXXIII. The Correlation between the Absorption of Barbituric Acid Derivatives from the Rat Small Intestine and their Binding to the Mucosa.

Chem. Pharm. Bull., 17 (2), 248-254 (1969 a)

58 KAKEMI, K., ARITA, T., HORI, R., KONISHI, R., NISHIMURA, K., MATSUI, H., NISHIMURA, T.

Absorption and Excretion of Drugs, XXXIV. An Aspect of the Mechanism of Drug Absorption from the Intestinal Tract in Rats.

Chem. Pharm. Bull., 17 (2), 255-261 (1969 b)

59 KAREL, L.

Gastric Absorption

Physiol. Rev. 28, 433-450 (1948)

60 KOIZUMI, T., ARITA, T., KAKEMI, K.

Absorption and Excretion of Drugs, XIX, Some Pharmacokinetic Aspects of Absorption and Excretion of Sulfonamides (I). Absorption from Rat Stomach.

Chem. Pharm. Bull 12, 413-420 (1964 a)

61 KOIZUMI, T., ARITA, T., KAKEMI, K.

Absorption and Excretion of Drugs, XX. Some Pharmacokinetic Aspects of Absorption and Excretion of Sulfonamides (2). Absorption from the Rat Small Intestine.

Chem. Pharm. Bull 12, 421-427 (1964 b)

62 KOJIMA, S., SMITH, R.B., CROUTHAMEL, W.G., DOLUISIO, J.T.

Drug Absorption VI: Water Flux and Drug Absorption in an in situ Rat Gut Preparation

J. Pharm. Sci. 61, 1061-1064 (1972)

65 KUNZE, H., VOGT, W.

Resorption von Phenolrot aus dem Dünndarm der Ratte

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 256, 139-148 (1967)

66 KUNZE, H.

Aktiver Transport als Komponente der enteralen Phenolrotresorption

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 259,260-265 (1968)

67 KURZ, H.

Principles of Drug Absorption

International Enzyclopedia of Pharmacology
Bd. 39B Vol. I p.245-296 (1975)

68 KURZ, H.

Die Permeation von Giften in die Leber

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 247, 164-179 (1964)

69 LAUTERBACH, F., WITTE, E.A.
Absorption of Drugs by Intestinal Filtration
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 277, R42 (1973)

70 LEO, A., HANSCH, C., ELKINS, D.
Partition Coefficients and their Uses
Chem. Reviews 71, 525-616 (1971)

71 LEVIN, R.J.
Techniques, Terminology and Parameters in Intestinal Absorption.
Brit. med. Bull 23, 209-212 (1967)

73 LEVINE, R.R.
The Influence of the Intraluminal Intestinal Milieu on Absorption of an Organic Cation and an Anionic Agent
J. Pharmacol. exp. Therap. 131, 328-333 (1961)

74 LEVINE, R.R., PELIKAN, E.W.
The Influence of Experimental Procedures and Dose on the Intestinal Absorption of an Onium Compound (Benzomethamine)
J. Pharmacol. exp. Therap. 131, 319-327 (1961)

75 LEVY, G., JUSKO, W.J.
Effect of Viscosity on Drug Absorption
J. Pharm. Sci. 54, 219-225 (1965)

76 LEVY, G., RAO, B.K.
Enhanced Intestinal Absorption of Riboflavine from Sodium-alginate Solution in Man
J. Pharm. Sci. 61, 279-280 (1972)

77 LOWENTHAL, W., BORZELLECA, J.F.
Drug Absorption from the Rectum I. Suppository Bases: a Preliminary Report
J. Pharm. Sci. 54, 1790-94 (1965)

78 MARSHALL, P.B.

Some Chemical and Physical Properties, Associated with Histamine Antagonism.

Brit. J. Pharmacol. 10, 270-278 (1955)

79 MAYER, S., MAICKEL, R.P., BRODIE, B.B.

Kinetics of Penetration of Drugs and other Foreign Compounds into Cerebrospinal Fluid and Brain

J. Pharmacol. exp. Therap. 127, 205-211 (1959)

80 MILNE, M.D., SCRIBNER, B.H., CRAWFORD, M.A.

Non-ionic Diffusion and the Excretion of Weak Acids and Bases

Amer. J. Med. 24, 709-729 (1958)

81 MURTHY, K.S., ZOGRAFI, G.

Oil-Water Partitioning of Chlorpromazine and other Phenothiazine Derivatives Using Dodecane and Octanol

J. Pharm. Sci. 59, 1281-1285 (1970)

82 NOGAMI, H., MATSUZAWA, T.

Studies on Absorption and Excretion of Drugs. I. Kinetics of Penetration of Acidic Drugs, Salicylic Acid through the Intestinal Barrier in vitro

Chem. Pharm. Bull, 9, 532-540 (1961)

83 NOGAMI, H., HANANO, M., WATANABE, J.

Studies on Absorption and Excretion of Drugs. V. On the Mechanism of Penetration of Sulfisomezol through the Intestinal Barrier in vitro.

Chem. Pharm. Bull 12, 1465-1471 (1964)

84 OCHSENFAHRT, H., WINNE, D.

Der Einfluß der Durchblutung auf die Resorption von Arzneimitteln aus dem Jejunum der Ratte.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 264, 55-75 (1969)

85 ORZECHOWSKI, G.

Gesetzmäßigkeiten der Resorption und ihre Bedeutung für die Arzneimitteltherapie

Med. Monatsschr. 19, 250-255 (1965)

86 OVERTON, E.

Über die allgemeinen osmotischen Eigenschaften der Zelle, ihre vermutliche Ursache und ihre Bedeutung für die Physiologie

Viertelj.-Schrift d. Naturforsch. Ges. Zürich 24,88-135 (1899)

87 PARROTT, E.L.

Salicylate Absorption from Rectal Suppositories

J. Pharm. Sci. 60, 867-872 (1971)

88 PARSONS, D.S.

The Absorption of Bicarbonate-Saline Solutions by the Small Intestine and Colon of the White Rat

Quart. J. exp. Physiol. 41, 410-420 (1956)

89 PAUL, M.F.,BENDER, R.C., NOHLE, E.G.

Renal Excretion of Nitrofurantoin

Am. J. Physiol. 197, 580-584 (1959)

90 PERRIER, D., GIBALDI, M.

Animal Models for Investigating Intestinal Drug Absorption: Various Antibiotics.

J. Pharm. Sci. 62, 1486-1490 (1973)

91 PENNATI, L., STEIGER-TRIPPI, K.

Über die Beeinflussung der Resorption von rektal verabreichten Arzneistoffen durch Suppositoriengrundmassen

Pharm. Acta Helv. 33, 663-677 (1958)

92 RENDINA, G., SARCIONE, E.J., LEE, C.J.,BARRETT, H.W.

Intestinal Absorption of Pyrimidines in the Rat

Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 95, 350-353 (1957)

93 REYNELL, P.C., SPRAY, G.H.

The Simultaneous Mesurement of Absorption and Transition in the Gastro-Intestinal Tract of the Rat

J. Physiol. 131, 452-462 (1956)

94 RIEDER, J.

Physikalisch-chemische und biologische Untersuchungen an Sulfonamiden

Arzneim.-Forsch. 13, 81-88 (1963)

95 RIEGELMAN , S., CROWELL, W.J.

The Kinetics of Rectal Absorption I. Preliminary Investigations into the Absorption Rate Process.

J. Am. Pharm. Ass. Sci. Ed.47,115-122 (1958 a)

96 RIEGELMAN , S., CROWELL, W.J.

The Kinetics of Rectal Absorption II. The Absorption of Anions

J. Am. Pharm. Ass. Sci. Ed.47,123-126 (1958 b)

97 RIEGELMAN , S., CROWELL, W.J.

The Kinetics of Rectal Absorption III. The Absorption of Undissociated Molecules

J. Am. Pharm. Ass. Sci. Ed.47, 127-133 (1958 c)

98 ROBINSON, C.S., DUNCAN, C.W.

The Effect of Lactose and the Acid-Base Value of the Diet on the Hydrogen-ion-concentration of the Intestinal Contents of the Rat and their Possible Influence on the Ca-Absorption.

J. biol. Chem. 92, 435-447 (1931)

99 SACHS, L.

1) Angewandte Statisik, 4. Aufl. (1975) Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York

2) Statistische Methoden, 3. Aufl. (1976) Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York

100 SALZMANN, P.N., BRODIE, B.B.

Physiological Disposition and Fate of Chlorpromazine and a Method for its Estimation in Biological Material

J. Pharmacol. exp. Therap. 118, 46-54 (1956)

101 SANFORD, P.A., SMYTH, D.H.

The Effects of Fasting on Intestinal Absorption

J. Physiol. 232, 92P-93P (1973)

102 SEAGER, H.

The Effect of Methylcellulose on the Absorption of Nitrofurantoin from the Gastrointestinal Tract

J. Pharm. Pharmacol. 20, 968-969 (1968)

103 SHANGRAW, R.F., WALKLING, W.D.

Effect of Vehicle Dielectric Properties on Rectal Absorption of Acetaminophen

J. Pharm. Sci. 60, 600-602 (1971)

104 SHORE, P.A., BRODIE, B.B., HOGBEN, C.A.M.

The Gastric Secretion of Drugs: a pH-Partition Hypothesis

J. Pharmacol. exp. Therap. 119, 361-369 (1957)

105 SMYTH, D.H., TAYLOR, C.B.

Transfer of Water and Solutes by an in vitro Intestinal Preparation

J. Physiol. 136, 632-648 (1957)

106 SCHANKER, L.S., SHORE, P.A., BRODIE, B.B., HOGBEN, C.A.M.

Absorption of Drugs from the Stomach.I. the Rat
J. Pharmacol. exp. Therap. 120, 528-539 (1957)

107 SCHANKER, L.S., TOCCO, D.J., BRODIE, B.B., HOGBEN, C.A.M.

Absorption of Drugs from the Rat Small Intestine

J. Pharmacol. exp. Therap. 123, 81-88 (1958)

108 SCHANKER, L.S.
Absorption of Drugs from the Rat Colon
J. Pharmacol. exp. Therap. 126, 283-290 (1959)

109 SCHANKER, L.S.
On the Mechanism of Absorption of Drug from the Gastrointestinal Tract
J. med. pharm. Chem. 2, 343-359 (1960)

110 SCHANKER, L.S.
Passage of Drugs across Body Membranes
Pharmacol. Rev. 14, 501-530 (1962)

111 SCHANKER, L.S.
Physiological Transport of Drugs
Advances in Drug Research 1, 71-106 (1964)

112 SCHEDL, H.P., CLIFTON, J.A.
Small Intestinal Absorption of Steroids
Gastroenterology 41, 491-499 (1961)

113 STRICKER, H.
Die in vitro-Untersuchungen der "Verfügbarkeit" von Arzneistoffen. I. Die Resorption aus dem Gastrointestinaltrakt
Arzneim.-Forsch. 20, 391-396 (1970)

114 TIDBALL, C.S.
Magnesium and Calcium as Regulators of Intestinal Permeability
Am. J. Physiol. 206, 243-246 (1964 a)

115 TIDBALL, C.S.
Intestinal and Hepatic Transport of Cholate and Organic Dyes
Am. J. Physiol. 206, 239-242 (1964 b)

116 TRAVELL, J.

The Influence of the Hydrogen Ion Concentration on the Absorption of Alkaloids from the Stomach

J. Pharmacol. exp. Therap. 69, 21-33 (1940)

117 TURNER, R.H., MEHTA, C.S., BENET, L.Z.

Apparent Directional and Permeability Coefficients for Drug Ions: in vitro Intestinal Perfusion Studies

J. Pharm. Sci. 59, 590-595 (1971)

118 WADELL, W.J., BUTLER, T.C.

The Distribution and Secretion of Phenobarbital

J. Clin. Invest. 36, 1217-1226 (1957)

119 WAGNER, G.J., LESLIE, L.G., GOVE, R.S.

Relative Absorption of Both Tetracycline and Penicilline G Administered Rectally and Orally in Aqueous Solution

Int. J. Clin. Pharmacol. 2, 44-51 (1969)

120 WALDRON-EDWARD, D., PAUL, T.M., SKORYNA, S.C.

Effects of the Counter Ion and pH on the Intestinal Absorption of Ca and Sr

Proc. Soc. Exptl.Biol. Med. 123, 532-538 (1966)

121 WILSON, T.H., VINCENT, T.N.

Absorption of Sugars in vitro by the Intestine of the Golden Hamster

J. biol. Chem. 216, 851-866 (1955)

122 WILSON, T.H., WISEMAN, G.

The Use of Sacs of Everted Small Intestine for the Study of the Transference of Substances from the Mucosal to the Serosal Surface

J. Physiol. 123, 116-125 (1954)

123 WINNE, D., REMISCHOVSKY, J.

Der Einfluß der Durchblutung auf die enterale Resorption nicht-dissoziabler Substanzen

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 266, 476-477 (1970)

124 WINNE, D., REMISCHOVSKY, J.

Der Einfluß der Durchblutung auf die Resorption von Polyalkoholen aus dem Jejunum der Ratte

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 270, 22-40 (1971)

LEBENSLAUF

Am 2o. Januar 1949 wurde ich als erstes Kind des Dipl.-Ing. Alfred Bittighofer und seiner Frau Margret, geb. Schmidt in Idar-Oberstein geboren. Ab 1955 besuchte ich dort die Volksschule. Anfang 1956 zogen wir nach Sindelfingen um. 1959 wurde ich Schüler des Sindelfinger Goldberg-Gymnasiums.

1968 legte ich die Reifeprüfung ab und begann im gleichen Jahr das Studium der Biologie an der Universität Tübingen. 1969 begann ich das Medizinstudium an der Universität München, das mit dem Staatsexamen 1974 abgeschlossen wurde.

Ende 1972 begann ich mit den Arbeiten zur Dissertation im Pharmakologischen Institut der Universität bei Prof. H. Kurz. Nach dem Staatsexamen arbeitete ich als Medizinalassistent mit einem Graduierten-Stipendium dort weiter an der Dissertation.

Ab Februar 1976 arbeitete ich als Medizinalassistent jeweils sechs Monate an der Chirurgischen Abteilung des Krankenhauses Sindelfingen und auf der Internistischen Abteilung des Heilig-Geist-Spitals in Schwäbisch Gmünd. Im Dezember 1976 erhielt ich die Approbation als Arzt.

Ab Februar 1977 leistete ich meinen Wehrdienst als Stabsarzt in Ulm ab. Seit Mai 1978 arbeite ich an der Abteilung für Physiologie der Universität Ulm im Histokompatibilitätslabor.

Herrn Prof. H. Kurz danke ich für das Thema,
die mir zur Verfügung gestellten Arbeitsmöglichkeiten
und seine Beratung und Unterstützung.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. H. Michels, der mir
bei der Arbeit tatkräftig zur Seite stand.

Frl. U. Schwaiger danke ich sehr für Ihre praktische
Unterstützung,
ebenfalls Herrn Dr. B. Fichtl für seine freundliche Beratung.

Diese Arbeit wurde durch ein Stipendium nach dem
Graduiertenförderungsgesetz gefördert (Nr. 845 & 3062).

ABER DU SPRACHST ZU MIR: AUCH HIER SIND GÖTTER
UND WALTEN,
GROSS IST IHR MASS, DOCH ES MISST GERN MIT DER
SPANNE DER MENSCH.

F.HÖLDERLIN